



UNIwersYTET MEDYCZNY
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Klaudia Maria Rubas

**Rola czynników środowiskowych i immunologicznych w
patogenezie piodermii zgorzelinowej**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor : prof. dr hab. n. med. Joanna Maj

Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii

Wrocław 2021

Składam serdeczne podziękowania

Pani Profesor Joannie Maj,

Promotorowi mojej pracy

Za inspirację, cierpliwość i wszelką pomoc okazaną w trakcie przygotowania niniejszej pracy

a także Pani mgr Danucie Nowickiej–Suszko

oraz Kierownikowi Kliniki Dermatologii, Wenerologii i Alergologii

Panu Profesorowi Jackowi Szepietowskiemu

Pracę dedykuję Moim Rodzicom i Synowi Antoniemu

SPIS TREŚCI

1.WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY.....	7
2.WSTĘP.....	9
2.1.Wprowadzenie.....	9
2.2. Epidemiologia piodermii zgorzelinowej.....	10
2.3. Etiopatogeneza piodermii zgorzelinowej.....	10
2.3.1.Zaburzenia funkcji neutrofilów.....	10
2.3.2. Podłoże genetyczne piodermii zgorzelinowej.....	11
2.3.3.Piodermia zgorzelinowa jako układowy proces zapalny.....	12
2.3.4.Rola cytokin w piodermii zgorzelinowej.....	12
2.3.5 Rola patergii w piodermii zgorzelinowej.....	14
2.4. Obraz kliniczny piodermii zgorzelinowej.....	15
2.5.Choroby współistniejące z piodermią zgorzelinową.....	17
2.5.1. Współwystępowanie piodermii zgorzelinowej i chorób zapalnych jelit.....	19
2.5.2. Współwystępowanie piodermii zgorzelinowej i zapalnych chorób stawów.....	20
2.5.3. Współwystępowanie piodermii zgorzelinowej i chorób hematologicznych.....	21
2.5.4 Piodermia zgorzelinowa indukowana lekami.....	22
2.6.Diagnostyka piodermii zgorzelinowej.....	24
2.6.1. Kryteria diagnostyczne piodermii zgorzelinowej.....	24
2.6.2. Diagnostyka różnicowa piodermii zgorzelinowej.....	27
2.7. Leczenie piodermii zgorzelinowej.....	27
2.8.Interleukiny- krótka charakterystyka i ich rola w organizmie człowieka.....	29
2.8.1. Interleukina 6.....	31
2.8.2. Interleukina 8.....	32
2.8.3. Interleukina 17.....	33

2.8.4. Interleukina 23.....	35
3.ZAŁOŻENIA I CELE PRACY.....	37
4. MATERIAŁ I METODY BADAŃ.....	39
4.1.Materiał.....	39
4.1.1.Grupa badawcza.....	39
4.1.2. Grupa kontrolna.....	39
4.2.Metody badań.....	39
4.2.1.Kliniczna ocena chorych.....	40
4.2.1.1.Wywiad lekarski.....	40
4.2.1.2. Badanie przedmiotowa z oceną zmian skórnych	40
4.2.2. Metody badań stężenia interleukin prozapalnych.....	40
4.2.2.1. Pobieranie próbki do badań i jej przechowywanie.....	40
4.2.2.2. Metoda oznaczania stężenia cytokin prozapalnych.....	40
4.2.2.3. Oznaczanie stężenia Human IL-6.....	41
4.2.2.4. Oznaczanie stężenia Human IL-8.....	43
4.2.2.5. Oznaczanie stężenia Human IL-17.....	44
4.2.2.6. Oznaczanie stężenia Human IL-23.....	47
4.2.3. Parametry laboratoryjne.....	49
4.2.4. Metody analizy statystycznej.....	49
5. WYNIKI.....	50
5.1 Charakterystyka ogólna grupy badanej i kontrolnej.....	50
5.2.Charakterystyka kliniczna grupy badanej.....	50
5.3. Stężenia badanych interleukin w surowicy chorych z piodermią zgorzelinową oraz w grupie kontrolnej, a także ich korelacje z innymi badanymi parametrami.....	52
5.3.1. Interleukina6.....	52
5.3.2. Interleukina 8.....	61
5.3.3. Interleukina 17.....	69
5.3.4. Interleukina 23.....	78
6.OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I Dyskusja.....	87

7.WNIOSKI.....	101
8.STRESZCZENIE.....	102
9.SUMMARY.....	106
10.PIŚMIENNICTWO.....	109
11.ANEKS.....	128

1.WYKAZ SKRÓTÓW STOSOWANYCH W PRACY

ANCA- przeciwciała przeciw cytoplazmie neutrofilów (anti-neutrophil cytoplasmic antibody)

anty-PS/PT - kompleks anty-fosfatydyloseryna-protrombina (anti-phosphatidylserine-prothrombin complex)

C1q - składowa dopełniacza 1q (complement component)

CSF - czynnik stymulujący kolonie (colony stimulating factor)

CD2 – receptor rozetkowy (cluster of differentiation 2)

CD2BP1 - proteina wiążąca koniec cytoplazmatyczny CD2 (CD2 cytoplasmic tail-binding protein)

CR-3 - receptor komplementu 3 (complement receptor-3)

CR-4 - receptor komplementu 4 (complement receptor-4)

CTLA-8 - cytotoksyczna molekula powiązana z limfocytami T (cytotoxic T lymphocyte-associate molecule-8)

CXC - cytokiny z rodziny chemokin (C-X-C motif chemokine)

CXCL8 - ligand chemokiny 1 (chemokine C-X-C motif ligand 8)

GCAP - adsorpcyjna afereza granulocytowo-monocytowa (granulocyte and monocyte adsorption apheresis)

G-CSF - czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów (granulocyte colony-stimulating factor)

GM-CSF- czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor)

GPI -glikozylofosfatydyloinocytol (glycosylphosphatidylinositol)

IL – interleukina (interleukin)

INF-alfa - interferon alfa (interferone alfa)

LDG -granulocyty o niskiej gęstości (low-density granulocytes)

LIF - czynnik hamujący białaczkę (leukemia inhibitor factor)

MEFV - gen kodujący białko gorączki śródziemnomorskiej (Mediterranean Fever gene)

NETs - pozakomórkowe pułapki dla neutrofilów (neutrophil extracellular traps)

NLRP - receptor typu NOD 3 (NOD3-like receptor)

NK - naturalne komórki zabijające (natural killer)

NOD- domena wiążąca nukleotyd (nucleotide oligomerization domain)

PAPA - zespół ropnego zapalenia stawów, piodermii zgorzelinowej i trądziku (pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne)

PASH - zespół piodermii zgorzelinowej, trądziku i ropni mnogich pach (pyoderma gangrenosum, acne and hidradenitis suppurativa)

PAPASH - zespół ropnego zapalenia stawów, piodermii zgorzelinowej, trądziku i ropni mnogich pach (pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum, acne, hidradenitis suppurativa)

PG - piodermia zgorzelinowa (pyoderma gangrenosum)

PSTPIP-1- prolinowo-serynowo-treoninowa fosfataza wchodząca w interakcje z białkiem 1 (proline-serine-threonine phosphatase interacting protein 1)

SPT - test skórnej patergii (skin patergy test)

SALT - tkanka limfoidalna związana ze skórą (skin associated lymphoid tissue),

TNF-alfa - czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor)

TRAF-6 - czynnik powiązany z receptorem dla TNF (TNF receptor associated factor)

VEGF- naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (vascular endothelial growth factor)

VLDL -lipoproteiny o niskiej masie cząsteczkowej (very-low-density-lipoproteins)

2. WSTĘP

2.1. Wprowadzenie

Piodermia zgorzelinowa (PG- pyoderma gangrenosum) jest bardzo rzadką neutrofilową dermatozą zapalną, która cechuje się występowaniem na skórze szybko powiększającego się zapalnego owrzodzenia lub licznych owrzodzeń. Choroba ta została opisana po raz pierwszy Louis Brocqą w 1908 r., a następnie przez Brunstinga i wsp. w 1930 r., którzy po raz pierwszy użyli określenia piodermia (ecthyma) gangrenosum [1].

Piodermia zgorzelinowa pozostaje jedną z najbardziej tajemniczych jednostek dermatologicznych, na temat której nadal istnieje wiele kontrowersji. Nazwa choroby jest myląca, gdyż nie jest ona wywoływana przez bakterie. Etiologia tej dermatozy nadal pozostaje nieznana. Obecnie postuluje się, że dysfunkcja neutrofilów, zaburzenia epigenetyczne i dysregulacje w układzie immunologicznym są głównymi czynnikami biorącymi udział w patogenezie choroby. Najnowsze dane z piśmiennictwa światowego wskazują na prawdopodobny udział interleukin w występowaniu choroby. U części chorych na piodermię zgorzelinową obserwuje się zjawisko patergii, czyli pojawiania się zmian chorobowych w miejscu urazu mechanicznego skóry (np. ukłucia, uderzenia). Ponadto u około połowy pacjentów współwystępują choroby systemowe np. choroby zapalne jelit, schorzenia hematologiczne czy zapalenia stawów. Rozpoznanie choroby stawia się na podstawie charakterystycznego obrazu klinicznego, w obrazie histologicznym nie istnieją cechy patognomoniczne dla piodermii zgorzelinowej, nie ma też laboratoryjnych markerów charakterystycznych dla PG. Rozpoznanie piodermii zgorzelinowej stawia się więc po wykluczeniu infekcji i innych stanów chorobowych przebiegających z owrzodzeniami skóry (owrzodzeń żylnych, zapaleń naczyń, owrzodzeń w przebiegu chorób tkanki łącznej, procesów złośliwych, owrzodzeń jatrogennych) [2].

Występujące w chorobie owrzodzenia są często rozległe, trudne w pielęgnacji i mogą powodować bardzo dużą bolesność. Ponadto ze względu na rzadkość występowania tej jednostki chorobowej, piodermia zgorzelinowa jest często źle diagnozowana i niewłaściwie leczona, co skutkuje pogorszeniem stanu klinicznego pacjentów.

2.2. Epidemiologia piodermii zgorzelinowej

Piodermia zgorzelinowa jest rzadkim schorzeniem, którego częstość występowania szacuje się na poziomie 3 do 10 przypadków na milion na rok [3,4]. Brakuje niestety danych epidemiologicznych, określających liczbę chorych na PG w Polsce. Większość dostępnych badań wskazuje na nieco częstsze występowanie choroby u kobiet, a początek choroby przypada głównie między 4 a 6 dekadą życia [5,6,7]. Istnieją jednak pojedyncze badania stojące w sprzeczności i wskazujące na nieco większą częstość występowania PG u mężczyzn, tak więc dane epidemiologiczne nie są spójne [8]. W różnych badaniach stosunek częstości PG u kobiet do mężczyzn szacuje się na 1.21, 1.44, a nawet 3.12 [9]. Przypadki piodermii zgorzelinowej występujące u dzieci i niemowląt są wyjątkowo rzadkie i stanowią 4% wszystkich przypadków piodermii zgorzelinowej. W tych przypadkach zmiany częściej lokalizują się na głowie, w okolicy krocza, mają charakter zmian krostkowych, często opisywano też przypadki rozsianej uogólnionej piodermii zgorzelinowej u dzieci [10].

2.3.Etiopatogeneza piodermii zgorzelinowej

Piodermia zgorzelinowa jest obecnie zaliczana do neutrofilowych dermatoz zapalnych i charakteryzuje się naciekiem zapalnym z przewagą neutrofilów. Przyczyny rozwoju procesu zapalnego pozostają jednak nadal niejasne. Początkowe hipotezy zakładały rolę ukrytej infekcji bakteryjnej, krążących przeciwciał czy reakcji Schwartzmana (lokalna odpowiedź na bakteryjne endotoksyny powodująca martwicę tkanek) w patogenezie choroby [1,11,12]. Koncepcje te okazały się jednak błędne i mają obecnie znaczenie historyczne. Nazwa choroby (zaproponowana przez Brunstinga) ma związek z tymi koncepcjami i mimo ich obalenia nadal jest używana.

2.3.1 Zaburzenia funkcji neutrofilów

Neutrofilowe dermatozy zapalne to grupa heterogenicznych chorób, charakteryzująca się zmianami skórnymi, w których badaniu histologicznym obserwuje się naskórkowy, skórny i podnaskórkowy gęsty naciek pierwotnie złożony z neutrofilów, bez tła infekcyjnego i bez cech prawdziwego zapalenia naczyń. Do grupy tej zalicza się, poza piodermią zgorzelinową m.in.: zespół Sweeta (ostrą gorączkową dermatozę neutrofilową), neutrofilową dermatozę grzbietów rąk, rumień wyniosły i długotrwały, podrogową dermatozę krostkową, neutrophilic eccrine hidradenitis, rheumatoid

neutrophilic dermatitis, zespół krótkiego jelita, chorobę Behçeta, neutrofilowe zapalenie tkanki tłuszczowej i aseptyczne ropnie skóry [13].

W biopsji pobranej z owrzodzeń piodermii zgorzelinowej wykrywa się obecność nacieku z dojrzałych neutrofilów w warstwie skóry właściwej. Chociaż neutrofile te wyglądają normalnie w badaniu mikroskopowym, to liczne badania potwierdzają ich dysfunkcję w piodermii zgorzelinowej [14]. W badaniu Adachiego i wsp. wykazano zaskakujące nieprawidłowości w migracji neutrofilów i związane z nimi zaburzenia w śródkomórkowej oscylacji *in vivo* w owrzodzeniach pacjentów. Neutrofile tych pacjentów wykazywały stałą nadmierną aktywację, nadekspresję integryn CR3 i CR4, a także miały upośledzoną funkcję reakcji integryn do receptorów GPI. Ponadto obserwowano zwiększone poziomy fosforylacji tyrozyny. Oscylacje NAD(P)H, które normalnie są sinusoidalne, były chaotyczne [15]. Znaczenie neutrofilów w etiopatogenezie piodermii zgorzelinowej podkreśla także fakt skuteczności czynników antyneutrofilowych w leczeniu piodermii zgorzelinowej tj. dapsonu i kolchicyny (działają one przez hamowanie procesów chemotaksji i fagocytozy) [14].

2.3.2 Podłoże genetyczne piodermii zgorzelinowej

Genetyczna podatność może mieć wpływ na rozwój piodermii zgorzelinowej. Opisano rodzinne przypadki piodermii zgorzelinowej, jednak są one ekstremalnie rzadkie [16,17]. W tych przypadkach wskazuje się na prawdopodobny autosomalny recesywny model dziedziczenia, a choroba opisywana była u rodzeństwa [17].

Kazuistycznie opisano także przypadek występowania PG u osób spokrewnionych, nie będących rodzeństwem [18]. Związek z genetycznymi zaburzeniami można wykazać także w przypadkach piodermii zgorzelinowej opisywanej w zespołach PAPA, PASH i PAPASH. Z punktu widzenia fizjopatologii w zespołach tych występuje wspólny mechanizm polegający na nadaktywności układu immunologicznego, co w konsekwencji prowadzi do nadprodukcji interleukin z rodziny Il- 1 oraz do jałowego zapalenia bogatego w neutrofile. Zespół PAPA to współwystępowanie ropnego jałowego zapalenia stawów, piodermii zgorzelinowej i trądziku. Jest to autosomalnie dominująco uwarunkowany zespół, łączony z mutacją w genie PSTPIP1/CD2BP1 w chromosomie 15q. Gen ten koduje prolinowo-serynowo-treoninową białek 1 (hiperfosforylowana PSTPIP 1). Mutacje tego genu promują stan zapalny poprzez aktywację inflamosomów wpływających na produkcję Il 1-beta [19]. W zespole PASH, który występuje głównie u

młodych dorosłych, opisano współwystępowanie PG, trądziku i hydradenitis suppurativa. W zespole tym odnotowano zwiększoną ilość mikrosatelitarnych powtórzeń CCTG w genie kodującym PSTPIP1 [20]. W zespole PAPASH (początkowo opisywanym jako zespół PASS) opisuje się współwystępowanie jałowego ropnego zapalenia stawów, trądziku, piodermii zgorzelinowej i hydradenitis suppurativa. Zespół ten związany jest z missensowną mutacją p.E277D w genie kodującym PSTPIP1 [20].

2.3.3. Piodermia zgorzelinowa jako układowy proces zapalny

W związku z przeważającą ilością dowodów, że PG jest związane z dysfunkcją neutrofilii, coraz większa ilość badaczy wskazuje na hipotezę, że piodermia zgorzelinowa jest systemową autozapalną chorobą związaną z dysregulacją w układzie immunologicznym. Powiązanie piodermii zgorzelinowej i jej współwystępowanie ze znanymi chorobami autozapalnymi np. chorobą Crohna czy Behçeta, wzrost białek ostrej fazy w przebiegu choroby, to argumenty przemawiające za taką hipotezą. Co więcej, taką hipotezę potwierdza fakt, że w zdecydowanej części przypadków piodermia zgorzelinowa wymaga leczenia systemowego [21].

Ponadto narastająca ilość danych dowodząca roli cytokin w chorobie zdaje się potwierdzać teorię piodermii zgorzelinowej jako autozapalnej choroby systemowej. Co więcej, powiązania piodermii zgorzelinowej z inną autozapalną chorobą skóry jaką jest hydradenitis suppurativa, wydaje się potwierdzać argument, że obie choroby należą do spektrum chorób autozapalnych lub są zbieżne z innymi współistniejącymi chorobami systemowymi [22].

2.3.4. Rola cytokin w patogenezie piodermii zgorzelinowej

Na przestrzeni ostatnich lat coraz więcej badań skupia się na roli zaburzeń immunologicznych i roli cytokin w patogenezie piodermii zgorzelinowej. Różne cytokiny kluczowe w regulacji funkcji leukocytów mogą odgrywać rolę w piodermii zgorzelinowej. Większość dostępnych badań dotyczy oznaczania poziomu interleukin w wycinkach ze zmian skórnych w piodermii zgorzelinowej.

W 2013 roku w dwóch artykułach komentowano skuteczne użycie kanakinumabu, czyli ludzkiego przeciwciała monoklonalnego anty IL 1-beta, w leczeniu piodermii zgorzelinowej [23,24]. W badaniach Marzano i wsp. stwierdzili podwyższone stężenie

zapalnych cytokin w wycinkach histologicznych 16 pacjentów z piodermią zgorzelinową m.in. TNF-alfa, IL-17 i ich receptorów oraz receptorów dla IL-1-beta w wycinkach osób chorych na PG [25]. Kolios i wsp. w 2015r. wykazali wzrost IL-1-beta i receptorów dla tej interleukiny w próbkach skórnych pacjentów [26]. Opisywano także udane próby leczenia owrzodzeń piodermii zgorzelinowej antagonistami IL-1 m.in. anakinrą i kanakinumabem [27,28].

Kolejną interleukiną, która może mieć znaczenie w patogenezie PG jest IL-6. Kozono i wsp. wykazali podwyższony poziom interleukiny 6 i G-CSF w surowicy krwi pacjentki z PG przed rozpoczęciem leczenia i ich normalizację po leczeniu choroby. W tym badaniu GM-CSF i TNF-alfa były w zakresie normy, co wydaje się zaskakujące, zwłaszcza że oba te czynniki biorą udział w rekrutacji neutrofilii i chemotaksji [29,30,31,32]. Kawakami i wsp. opisali również przypadek pacjenta z piodermią zgorzelinową współistniejącą z colitis ulcerosa, u którego wyjściowo obserwowano znacząco podwyższone stężenie IL-6 i IL-8 w surowicy, które uległy normalizacji po zastosowaniu skutecznego leczenia [33].

Interleukina 8 jest głównym czynnikiem chemotaktycznym dla neutrofilii i bierze udział w wielu przewlekłych procesach zapalnych, stąd zwiększone zainteresowanie badaczy tą cytokiną w powiązaniu z piodermią zgorzelinową. W owrzodzeniach pacjentów z PG stwierdza się podniesiony poziom IL-8, co sugeruje rolę tej interleukiny w patogenezie choroby [34,35]. W przeprowadzonym przez Oka i wsp. eksperymencie na myszach wykazano, że IL-8 może prowokować pojawianie się owrzodzeń zbliżonych do tych występujących w PG [34]. Ponadto jak wspomniano PG może współistnieć z colitis ulcerosa, chorobą Leśniowskiego-Crohna oraz reumatoidalnym zapaleniem stawów, a w tych chorobach również postuluje się rolę nadekspresji IL-8 jako czynnika patogenetycznego [36,37].

Poza wymienionymi interleukinami, w badaniach opisuje się też wzrost interferonu (IFN- γ), G-CSF, czynnika martwicy guza (TNF), metalopeptydazy macierzy MMP-9 i MMP-1 (matrix metalloproteinase) [38].

Czynnik martwicy guza (TNF) jest także związany z chorobami zapalnymi jelit, a antagoniści tej cytokiny – infliksimab, etanercept czy adalimumab, wykazały się skutecznością w leczeniu piodermii zgorzelinowej [39,40,41].

TNF pozostaje w zależności z interleukiną 8, silnie indukując jej sekrecję, a IL-8 działa chemotaktycznie na neutrofile, które dominują w nacieku owrzodzeń piodermii zgorzelinowej. W najnowszych badaniach z wykorzystaniem leków biologicznych w

leczeniu piodermii zgorzelinowej, wysunięto także hipotezę, że Il-17 i Il-23 również mogą odgrywać istotną rolę w patogenezie tej choroby. Ustekinumab blokuje wspólną podjednostkę p40 jednakową dla Il-12 i Il-23. Niestety dotychczas opisano niewiele prób skutecznego użycia ustekinumabu w leczeniu PG [42]. W przypadkach tych wykazano podwyższone stężenie Il-23 w owrzodzeniach pacjentów przed rozpoczęciem leczenia [43,44].

Inne leki biologiczne takie jak ixekizumab (anty Il-17) czy brodalumab (anty Il-17-R) mogą być efektywne w leczeniu piodermii zgorzelinowej, ale brak jest badań w tym zakresie. Teoretyczna blokada Il-17 może hamować migrację neutrofilów i tworzenie się nacieku neutrofilowego w piodermii zgorzelinowej [42].

2.3.5. Rola patergii w piodermii zgorzelinowej

Patergia to termin używany do opisywania zjawiska indukcji lub zaostrzenia się zmian skórnych pod wpływem urazów mechanicznych, w tym urazów jatrogennych takich jak np. operacja czy chirurgiczne oczyszczanie ran. Zjawisko to jest opisywane w piodermii zgorzelinowej, w chorobie Behçeta oraz w chorobie Sweeta. Etiologia patergii nie jest do końca jasna. Postuluje się, że uraz mechaniczny może prowadzić do chemotaksji neutrofilów i wzrostu ich aktywności.

Badania nad częstością występowania patergii w piodermii zgorzelinowej są ograniczone. W retrospektywnym badaniu 103 pacjentów z PG, udokumentowane zjawisko patergii występowało u 31 % [45]. W innej retrospektywnej analizie, której poddano 166 pacjentów z piodermią zgorzelinową w wywiadzie, 25 pacjentów (15 %) doświadczyło epizodów zaostrzenia lub nawrotu choroby po interwencji chirurgicznej. Autorzy tego badania ocenili ryzyko zaostrzenia lub nawrotu PG związanego z interwencją chirurgiczną na małe, ale znaczące klinicznie. Wyższe ryzyko występowało w przypadku inwazyjnych procedur chirurgicznych i w przypadku pacjentów, u których utrzymywało się owrzodzenie w czasie leczenia chirurgicznego [46,47]. Xia i współpracownicy nie zaobserwowali, aby przewlekła lub profilaktyczna immunosupresja farmakologiczna poprzedzająca zabieg chirurgiczny, prowadziła do zmniejszenia ilości nawrotów PG po interwencji chirurgicznej [46]. W medycynie zastosowanie znajduje test patergii stosowany w chorobie Behçeta od 1937 r. Pozytywny przebieg testu (SPT- skin patergy test) oznacza pojawianie się nowych aktywnych zmian skórnych (grudki, krosty) po ukuciu igłą w czasie do 48 h od wykonania testu. Test ten jest jednym z głównych

kryteriów diagnostycznych stosowanych w chorobie Behçeta. Nie istnieje jednak wystandaryzowana metoda przeprowadzenia testu, ukucie może być podskórne lub śródskórne, nie jest także określona wielkość czy rodzaj igły jaką test powinien być przeprowadzony [48].

Niestety, nie ma wiarygodnych badań ani analiz dotyczących pacjentów z PG i ich odpowiedzi na test patergii, a etiologia patergii w PG też jest niejasna [49].

Co istotne, patergia w piodermii zgorzelinowej może manifestować się także gwałtownym pogorszeniem owrzodzeń PG po oczyszczaniu chirurgicznym ran. Zjawisko to ogranicza użycie graftów skórnych w leczeniu tej choroby. Ponadto opisano także okołostomijną odmianę PG, pojawiającą się u pacjentów ze współistniejącym colitis ulcerosa, poddanych operacji z założeniem kolostomii lub ileostomii [50,51].

2.4. Obraz kliniczny piodermii zgorzelinowej

Piodermia zgorzelinowa jest jednostką niejednorodną klinicznie i można ją podzielić na kilka odmian. Cztery główne podtypy to postać wrzodziejąca (klasyczna), która jest najczęstszym wariantem choroby, postać pęcherzowa (atypowa) oraz postać krostkowa i wegetatywna [52,53,54].

Niezależnie od podtypu PG choroba zaczyna się od zapalnej krosty, grudki, pęcherzyka lub guzka, który następnie rozpada się pozostawiając nadżerkę lub owrzodzenie. Poza postacią wegetatywną PG, owrzodzenia powiększają się bardzo szybko, a silny ból występujący u pacjentów jest niewspółmiernie duży do wyglądu i rozmiaru owrzodzenia. Początkowi choroby może towarzyszyć gorączka [52].

Najczęstszym podtypem piodermii zgorzelinowej jest postać klasyczna. Krosta, grudka lub pęcherzyk rozpadają się, tworząc owrzodzenie, które szerzy się obwodowo w szybkim tempie. Owrzodzenia mają podminowane brzegi w kolorze fioletowym lub sinym. Centrum owrzodzenia charakteryzuje się nekrozą, często z ropną wydzieliną. Głębokość owrzodzenia może sięgać do tkanki podskórnej, a nawet do powięzi [55].

Zmiany mogą być pojedyncze lub rozsiane. Zlokalizowane są najczęściej na kończynach dolnych, chociaż inne lokalizacje też są możliwe. Po skutecznym leczeniu owrzodzenia ustępują, pozostawiając zanikową siatkowatą bliznę.

Postać atypowa, czyli pęcherzowa piodermia zgorzelinowa jest bardziej powierzchownym wariantem PG. Często współistnieje z chorobami hematologicznymi, najczęściej z ostrą białaczką szpikową lub innymi chorobami hemoproliferacyjnymi [56]. Najczęstszą lokalizacją tej postaci są twarz i ramiona. Początkowo na skórze pojawia się

szaro-niebieski pęcherz, z treścią krwistą, który następnie pęka odsłaniając nadżerkę lub powierzchowne owrzodzenie. Co ciekawe postać klasyczna i atypowa może współistnieć u tego samego pacjenta [56].

Postać krostkowa piodermii zgorzelinowej zwykle opisywana jest u pacjentów z chorobami zapalnymi jelita grubego m.in. colitis ulcerosa lub chorobą Crohna. Manifestuje się licznymi krostami zlokalizowanymi na rumieniowym podłożu. Często pojawianiu się zmian na skórze towarzyszy gorączka i zapalenie stawów [52].

Pyostomatitis vegetans to postać PG zlokalizowana w jamie ustnej i zaliczana jest do wariantu krostkowego choroby opisanego powyżej. Cechuje ją występowanie nadżerek i krost zlokalizowanych na błonie śluzowej jamy ustnej [55].

Wegetatywna postać PG, nazwana inaczej powierzchowną ziarniniakową piodermią zgorzelinową, jest zlokalizowaną, łagodną formą PG, manifestującą się jako guzek, blaszka lub owrzodzenie. Często zmiany mają charakter brodawkujący, a brzegi owrzodzenia nie są zapalne ani podminowane. Najczęściej zlokalizowane są na szyi lub twarzy [53,55].

Ponadto w opisie i nomenklaturze PG wykorzystuje się także terminy odnoszące się do lokalizacji zmian np. okołostomijna piodermia zgorzelinowa, genitalna czy pozaskórna piodermia zgorzelinowa.

Okołostomijna piodermia zgorzelinowa jest rzadką postacią PG charakteryzującą się występowaniem zmian w okolicy stomii. Taki typ współistnieje z colitis ulcerosa lub chorobą Leśniowskiego-Crohna, częściej dotyczy kobiet, a średnia wieku w chwili zachorowania to ok. 46 lat. Średni czas od założenia stomii do powstania owrzodzenia w PG okołostomijnej to zwykle 3-5 miesięcy, jednak zmiany mogą powstawać nawet wiele lat po założeniu stomii, Rolę w etiologii wydaje się odgrywać przewlekłe drażnienie okolicznych tkanek przez wydzielinę ze stomii [55,57].

Postać genitalna PG może rozwijać się na sromie, penisie czy mosznie. Zmiany zlokalizowane w takich miejscach najczęściej przypominają wrzodziejącą postać PG.

Wyjątkowo rzadko PG może zajmować inne narządy. W takich przypadkach jałowe nacieki z neutrofilii lokalizują się w płucach, jelitach, wątrobie, sercu, mięśniach czy centralnym układzie nerwowym [58,59].

W literaturze opisano także łącznie około 20 przypadków piodermii zgorzelinowej zlokalizowanej w oku. U ok. 75% wszystkich przypadków ocznych PG,

zmiany o charakterze piodermii współistniały również na skórze lub zmiany skórne poprzedzały wystąpienie zmian ocznych. Zmiany w PG o lokalizacji ocznej lokalizowały się pierwotnie najczęściej na górnej powiece i rogówce. W około połowie przypadków rozpoznanie postawione zostało zbyt późno, co skutkowało bardzo słabym wynikiem leczenia, a choroba prowadziła do destrukcji gałki ocznej [60].

Ponadto wyróżnia się także piodermię zgorzelinową pooperacyjną, która pojawia się około 2 tygodnie po operacji i występuje w okolicy blizny pooperacyjnej. Pierwsze objawy to rumień i bardzo duża bolesność, a następnie pojawienie się punktowych owrzodzeń, które zlewają się w większe. Pooperacyjna PG jest częstsza u kobiet. U kobiet najczęstszą okolicą zajmowaną przez PG pooperacyjną to piersi, a u mężczyzn klatka piersiowa [61].

U 66% pacjentów z PG pooperacyjną nie stwierdza się współistniejącej choroby układowej. W pozostałych przypadkach najczęstszymi schorzeniami towarzyszącymi były choroby hematologiczne. Piodermia zgorzelinowa pooperacyjna często jest źle diagnozowana jako infekcja rany pooperacyjnej i leczona jest antybiotykami oraz chirurgicznym oczyszczeniem rany, co prowadzi do zaostrzenia przebiegu choroby na skutek zjawiska patergii [62].

2.5. Choroby współistniejące z piodermią zgorzelinową

Piodermia zgorzelinowa często współistnieje z innymi chorobami układowymi. Najczęściej są to zapalne choroby jelit, choroby zapalne stawów czy schorzenia hematologiczne, w tym złośliwe rozrosty hematologiczne. Częstość współwystępowania poszczególnych chorób z piodermią zgorzelinową różni się w dostępnych publikacjach. Ponadto z uwagi na rzadkość opisywanej choroby dane są ograniczone. Ocenia się, że w zależności od piśmiennictwa współwystępowanie PG z innymi chorobami stwierdza się w 25-75% przypadków [7,63,64].

W jednym z dużych badań obejmujących retrospektywnie grupę 356 dorosłych pacjentów z piodermią zgorzelinową, u 238 pacjentów (ok. 67%) wykryto współistniejące schorzenia układowe [63]. Spośród wszystkich analizowanych pacjentów kolejno: 41% chorowało na choroby zapalne jelit, 21% na zapalne choroby stawów, 7% na nowotwory łagodne narządów wewnętrznych, 6% na złośliwe rozrosty hematologiczne, a pozostałe 5% na inne schorzenia hematologiczne m.in. na monoklonalną gammopatię o

nieustalonej przyczynie, zespół mielodysplastyczny czy czerwienicę prawdziwą[63]. Ponadto w badaniu tym zasugerowano, że wiek pacjentów wpływa na ryzyko występowania współistniejących chorób zapalnych. Pacjenci w wieku 65 lat i więcej częściej chorowali na reumatoidalne zapalenie stawów, zeszywniające zapalenie stawów kręgosłupa, guzy lite oraz choroby hematologiczne. Choroby zapalne jelit były bardziej powszechne u pacjentów poniżej 65 roku życia.

W metaanalizie wykonanej przez Kridin i wsp. zebrano wyniki dotyczące łącznie 2611 z różnych badań. Badanie to również potwierdziło współwystępowanie PG z innymi chorobami systemowymi w ok. 56.8% wszystkich przypadków. Częstość współwystępowania poszczególnych chorób u tych pacjentów to kolejno: choroby zapalne jelit w 17,6 % , zapalenie stawów w 12,8 % , złośliwe rozrosty hematologiczne w 8,9% , guzy lite w 7,4% przypadków [65].

Ponadto Gillard i wsp. w analizie retrospektywnej 126 pacjentów z piodermią zgorzelinową we Francji, stwierdzili współwystępowanie cukrzycy u 15,1 % pacjentów, a u 18,8 % pacjentów z PG poddanych analizie stwierdzono otyłość [64].

Co więcej, w badaniu Gillarda oceniano także współwystępowanie PG chorobami sercowo-naczyniowymi, stwierdzając nadciśnienie tętnicze u 36,3 % pacjentów. Zarówno w patofizjologii PG i chorób sercowo-naczyniowych stwierdza się aktywację odpowiedzi zapalnej, ze wzrostem interleukin produkowanych przez limfocyty Th17. W takim kontekście ocenia się, że choroby sercowo- naczyniowe mogą współistnieć z PG i powinno się je diagnozować u pacjentów z piodermią zgorzelinową, zwłaszcza w sytuacji kiedy chce się włączyć do leczenia glikokortykosteroidy systemowe [65].

Opisano także pojedyncze przypadki współwystępowania PG z toczniem rumieniowatym układowym. W literaturze opisano ok.25 takich przypadków [66]. W zdecydowanej większości tych przypadków diagnoza tocznia rumieniowatego była postawiona przed dołączeniem się objawów piodermii zgorzelinowej. Mimo rzadkości takiego zjawiska, współwystępowanie obu chorób może potwierdzać fakt, że w przypadku obu tych chorób dochodzi do zaburzeń w regulacji układu immunologicznego. Ponadto badania ostatnich lat wskazują na rolę neutrofilów w patogenezie tocznia. Udowodniono, że w toczniu rumieniowatym układowym pod wpływem różnych stymulacji dochodzi do powstawania struktur zwanych NET (*Neutrophil Extracellular Traps*), które zawierają DNA i histony. Struktury NET odgrywają rolę bakteriostatyczną i biorą udział w eliminacji patogenów. Sugeruje się, że nieprawidłowe struktury NET pojawiają się w toczniu układowym, co wpływa na

załamanie się tolerancji w kierunku jądrowych antygenów ekspozycyjnych strukturom NET. To zjawisko może być odpowiedzialne za autoagresję [66]. Ponadto opisywano także współwystępowanie z toczniem układowym innych dermatoz neutrofilowych takich jak zespół Sweeta [67].

Uważa się, że nie ma korelacji między przebiegiem piodermii zgorzelinowej a przebiegiem chorób współistniejących. PG może poprzedzać lub dołączać się do już istniejących chorób systemowych [14]. Rodzaj choroby współistniejącej z PG wpływa na wyniki leczenia i śmiertelność pacjentów. I tak przypadki PG współistniejące z zapaleniem naczyń i nowotworami układu krwiotwórczego były powiązane z 4 do 6 razy większą śmiertelnością szpitalną niż pacjenci ze współistniejącymi chorobami zapalnymi jelit [68].

2.5.1. Współwystępowanie piodermii zgorzelinowej i chorób zapalnych jelit

Piodermia zgorzelinowa współistnieje najczęściej z chorobami zapalnymi jelit (IBD- inflammatory bowel disease). Częstość występowania chorób zapalnych jelit u pacjentów z PG szacuje się na ok. 34% [69,70].

Częstość występowania przypadków piodermii zgorzelinowej u pacjentów z chorobami zapalnymi jelit to ok 0,5 do 1,2 % [69]. Etiologia współwystępowania PG i IBD nie jest do końca jasna. Choroby zapalne jelit to grupa chorób obejmująca m.in. chorobę Leśniowskiego-Crohna i wrzodziejące zapalenie jelita grubego, w przebiegu których dochodzi do idiopatycznego stanu zapalnego w przewodzie pokarmowym. Współzależność pomiędzy piodermią zgorzelinową a IBD jest złożona. W etiologii obu chorób rolę odgrywiają zaburzenie w układzie immunologicznym i zwiększone stężenia mediatorów zapalnych takich jak TNF-alfa, Il-17 i Il-23 [68]. Piodermia zgorzelinowa występuje z równą częstością u pacjentów z chorobą Leśniowskiego-Crohna i u tych chorujących na wrzodziejące zapalenie jelita grubego. W obu przypadkach pojawia się zazwyczaj w czasie aktywnie trwającej choroby jelit, jednak opisano także przypadki PG które pojawiły się w czasie remisji IBD. Co więcej, PG może poprzedzać o kilka lat pojawienie się IBD, znane są też przypadki utrzymywania się aktywnych owrzodzeń PG w postaci okołostomijnej nawet po usunięciu zajętej części jelita. W badaniu na niewielkiej grupie pacjentów wykazano, że w 26% przypadków PG poprzedzało diagnozę IBD, zwłaszcza u pacjentów poniżej 50 r.ż. [71]. Pomimo że nie ma

wytycznych screeningu pacjentów z idiopatyczną PG w kierunku IBD, należy pamiętać, że informacja o PG w wywiadzie może być istotna w razie niepewnej diagnozy IBD [70]. Ponadto sugeruje się wpływ IL-8 i IL-15 w etiologii współwystępowania PG i chorób zapalnych jelit [72].

Pośrednim dowodem związku patogenetycznego PG i chorób zapalnych jelit jest skuteczność leczenia obu chorób lekami immunosupresyjnymi np. adalimumabem czy infliksymabem. W analizie porównawczej pacjentów PG versus PG ze współistniejącą IBD, wykazano, że w tej drugiej grupie częściej występowały bóle i zapalenie stawów, niższe były stężenia hemoglobiny w surowicy krwi i częściej występowały dodatnie badania w kierunku przeciwciał ANCA [69].

2.5.2. Współwystępowanie piodermii zgorzelinowej i zapalnych chorób stawów

W literaturze dostępne są liczne opisy przypadków współistnienia PG z chorobami stawów, najczęściej z reumatoidalnym zapaleniem stawów. Podaje się, że nawet 37% przypadków piodermii zgorzelinowej współistnieje z zapaleniem stawów. W większości przypadków piodermia zgorzelinowa dołącza się do już istniejącej choroby stawów [73]. Zapalenie stawów współistniejące z PG to najczęściej klasyczne seropozytywne reumatoidalne zapalenie stawów, rzadziej postępujące seronegatywne zapalenie stawów bez HLA-B27, łuszczykowe zapalenie stawów, zespół Reitera, a także seronegatywne zapalenie stawów powiązane z zapalnymi chorobami jelit [74].

U pacjentów z PG i reumatoidalnym zapaleniem stawów stwierdza się zwykle dodatni czynnik reumatoidalny i obecność erozji w okolicach powierzchni stawowych, które są widoczne w RTG. Reumatoidalne zapalenie stawów dotyczy dwa razy częściej kobiet i jego częstość występowania wzrasta z wiekiem.

Przypadki PG współistniejące z reumatoidalnym zapaleniem stawów często przebiegają zdecydowanie bardziej agresywnie, wyjątkowo szybko się powiększają, zajmując skórę, powięź i mięśnie, a owrzodzenia w przebiegu choroby mają średnicę powyżej 10 cm [75]. Co więcej z dostępnej literatury wynika także, że w przypadku współwystępowania reumatoidalnego zapalenia stawów z piodermią zgorzelinową, owrzodzenia są bardziej odporne na leczenie niż w przypadku idiopatycznej postaci PG [74,76]. Carlos i wsp. przeprowadzili badanie oceniające odpowiedź na leczenie u

pacjentów z PG i współistniejącym reumatoidalnym zapaleniem stawów (ang. patients with arthritis-associated PG, PGA) porównując ją z odpowiedzią na leczenie w grupie pacjentów chorujących na idiopatyczną postać piodermii zgorzelinowej. Czas badania zaplanowano na 2 lata i po tym okresie 7 z 10 owrzodzeń idiopatycznej piodermii zgorzelinowej uległo wygojeniu, a dla porównania tylko u 2 z 8 pacjentów z PGA owrzodzenia uległy wygojeniu (78% vs 23.4%) [74]. U pacjentów z zapaleniem stawów stwierdza się zwiększone ryzyko rozwoju niewydolności żyłnej z powodu na ograniczenia ruchowe, upośledzoną fibrylizę i słabej rozwiniętą pompę mięśniową w związku z atrofią mięśni. Zjawiska te mogą odgrywać kluczową rolę w oporności na leczenie u pacjentów PGA [74].

2.5.3. Współwystępowanie piodermii zgorzelinowej i chorób hematologicznych

Piodermia zgorzelinowa może współistnieć z różnymi chorobami hematologicznymi. Według najnowszych doniesień postacią najczęściej współistniejącą z chorobami hematologicznymi jest postać pęcherzowa piodermii zgorzelinowej [77,78].

W analizie Su i wsp. postać pęcherzowa PG była związana z rozrostami hematologicznymi w 70 % przypadków [79]. Sakuyama i wsp. opublikował 38 przypadków pęcherzowej postaci PG z czego 65,8 % było związane z hematologicznymi schorzeniami m.in. białaczką mieloblastyczną (44,7%) i przewlekłą białaczką mielocytową (10,5%). Sakayama wykazał, że piodermia pęcherzowa występowała częściej u kobiet (65,8% wszystkich pacjentów) [80]. Co więcej postać pęcherzowa piodermii zgorzelinowej dobrze odpowiada naleczenie podstawowej choroby hematologicznej i zwykle obserwuje się wygojenie owrzodzeń po włączeniu chemioterapii. W rzadkich przypadkach oporności sugeruje się dołączenie glikokortykosteroidów [78].

Dobrze udokumentowane jest również współistnienie piodermii zgorzelinowej z monoklonalną gammopatią i szpiczakiem mnogim. W przypadku bezobjawowej gammopatii czy tłącego się, bezobjawowego szpiczaka przyjmuje się zwykle postawę wyczekującą i pozostawia się je bez leczenia. W przypadku gdy do takiego stanu dołącza się piodermia zgorzelinowa, zdarza się że jest ona oporna na leczenie glikokortykosteroidami czy immunosupresantami. W takich sytuacjach warto zastosować

leczenie stosowane w objawowej gammopatii monoklonalnej czy objawowego szpiczaka, gdyż skutkuje ono zwykle spektakularnym wygojeniem się owrzodzeń PG [81].

Piodermii zgorzelinowej mogą także towarzyszyć niezłośliwe choroby hematologiczne m. in. niedokrwistość. Duża wielośrodkowa retrospektywna analiza opublikowana przez Ghazal i wsp., pokazują także, iż niedokrwistość była obserwowana bardzo często w niemieckiej populacji pacjentów z PG (u ok. 45,6 %), dlatego postuluje się, że to zaburzenie jest możliwym kofaktorem w patogenezie PG [82].

2.5.4. Piodermia zgorzelinowa indukowana lekami

W literaturze dostępne są także rzadkie przypadki piodermii zgorzelinowej indukowanej lekiem. Wu i współpracownicy przeanalizowali dostępną literaturę, w której opisano około 43 takich przypadków [83]. Duża część z opisanych przypadków była spowodowana czynnikiem stymulującym kolonie (CSF-colony stimulating factor) oraz małymi cząsteczkami inhibitorów kinaz tyrozynowych.

Postuluje się, że leki indukują PG przez różne mechanizmy takie jak np. zaburzenia funkcji neutrofilów, dysregulację odpowiedzi zapalnej, promocję apoptozy keratynocytów czy zmianę mechanizmów epigenetycznych. Jednym z leków, które może indukować powstawanie PG jest lewamizol [83].

Kolejnym lekiem, po zastosowaniu którego może wystąpić piodermia zgorzelinowa jest sulpiryd [84]. Badania dowodzą, że sulpirid powoduje aktywację odpowiedzi związaną z hiper-IgM kompleksów, które następnie aktywują klasyczną drogę dopełniacza i stan zapalny [83,84]. Opisano także PG związaną z zastosowaniem inhibitorów TNF-alfa takich jak adalimumab, infliksymab, czy etanercept. Etanercept i inne anty-TNF-alfa są używane z powodzeniem w leczeniu PG. Przy prawidłowej odpowiedzi na te leki, dochodzi do inhibicji CD4 + i zmniejszenia proliferacji komórek T oraz obniżenia IFN-gamma. Istnieją także dobrze udokumentowane przypadki PG wyindukowanej antagonistami TNF alfa , gdzie wystąpiła reakcja paradoksalna. Uważa się, że w takich sytuacjach dochodzi do zaburzeń w stężeniu cytokin [83,85].

Kolejnym przykładem związku PG ze stosowanymi lekami są reakcje po rituksymabie, który jest ludzko-mysim, chimerycznym przeciwciałem monoklonalnym, anty-CD20, produkowanym metodą inżynierii genetycznej. Wydaje się, że PG indukowana rituksymabem jest skutkiem nadaktywności klasycznej ścieżki dopełniacza [83]. Opisywano także związek stosowania czerwonego barwinka w tatuażach, który

może stymulować kaskady zapalne, a u osób predysponowanych indukować rozwój PG. Wśród toksycznych substancji zawartych w czerwonym pigmentie wymienia się m.in. żelazo, wapń, tytan, sylikon, rtęć i kadm. Ponadto w czasie wykonywania tatuażu dochodzi do mikrourazów skóry, które na zasadzie patergii mogą stymulować wywołanie owrzodzenia [83].

Wśród innych leków, które potencjalnie mogą indukować powstawanie owrzodzeń piodermii zgorzelinowej są czynniki stymulujące wzrost kolonii – G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) oraz GM-CSF (granulocyte-monocyte colony stimulating factor). Działają one przez stymulację chemotaksji neutrofilów, nieprawidłową aktywację ścieżki dopełniacza i pobudzenie odpowiedzi prozapalnych Th 17 komórek efektorowych [83]. Opisano także rzadkie przypadki PG, które były związane ze stosowaniem interferonu-alfa, imatinibu, propylthiouracylu, isotretynoiny i alitretynoiny, ipilimumabu, sunitinibu, imatynibu [83].

Ciekawą analizę opublikowali Wang i wsp., którzy przeanalizowali 44 przypadki piodermii zgorzelinowej wyindukowanej lekiem, oceniając ryzyko reakcji niepożądanego polekowego w skali Naranjo [85]. Skala ta służy do oszacowania prawdopodobieństwa związku stosowania leku z występującym u pacjenta działaniem niepożądanym. W badaniu tym stwierdzono, że tylko dwie spośród opisywanych substancji tj. lewamizol i kokaina, wykazują definitywne działanie niepożądane w postaci wywołania owrzodzeń typu PG (9 do 13 pkt. w skali Naranjo). Niektóre opisywane leki: propylthiouracyl, isotretynoina, interferon, sunitinib, gefitinib, enoksaparyna, erytropoetyna, pazopanib, etanercept, ipilimumab, azacytydyna, alitretynoina i ciprofloksacyna, z dużym prawdopodobieństwem mogą wywoływać owrzodzenia typu PG (punktacja Naranjo 5-8). Reszta opisywanych leków (t.j. G-CSF, infliximab, adalimumab, lenalidomid i czerwony barwnik tatuaży) uzyskała punktację Naranjo w przedziale 1-4 pkt, co wskazuje na możliwy związek leku z wywoływaniem piodermii zgorzelinowej. [85].

2.6. Diagnostyka piodermii zgorzelinowej.

2.6.1. Kryteria diagnostyczne piodermii zgorzelinowej.

Piodermia zgorzelinowa występuje rzadko i postawienie prawidłowego rozpoznania w przypadku tej choroby może stwarzać pewne trudności. Jest to tak zwana "diagnoza z wykluczenia", co oznacza, że rozpoznanie można postawić po wykluczeniu

innych jednostek chorobowych branych pod uwagę w diagnostyce różnicowej PG. Na przestrzeni lat powstają różne kryteria mające na celu ujednoczenie procesu diagnostycznego piodermii zgorzelinowej.

Jedne z pierwszych kryteriów pochodzą z 2004 r. i zostały zaproponowane przez Su. i jej współpracowników [86]. Zawierają one dwa kryteria większe i cztery kryteria mniejsze. Do kryteriów większych tej klasyfikacji zalicza się: 1) gwałtownie powstające owrzodzenie skóry, które jest bolesne i ma zapalny, podminowany, fioletowy brzeg, 2) konieczność wykluczenia innych przyczyn owrzodzenia (diagnostyka różnicowa). Do kryteriów mniejszych zalicza się: 1) historię patergii lub klinicznie obecność blizny przypominającej mózg (ang. cerebriform scar), 2) występowanie układowych chorób powiązanych z PG, 3) określony obraz histologiczny, w który wpisuje się jałowy naciek z neutrofilami, lub mieszany naciek zapalny i/lub obraz zapalenia naczyń (typu limfocytowego), 4) szybka odpowiedź na leczenie systemowymi glikokortykosteroidami (dawka między 1 a 2 mg/kg na dobę powinna prowadzić do zmniejszenia się owrzodzenia o połowę ciągu 1 miesiąca). Należy podkreślić, że warunkiem rozpoznania PG jest spełnienie obu kryteriów większych i 2 kryteriów mniejszych [86].

Najnowsze kryteria z Delphi opracowane przez grupę ekspertów w 2018 r. obejmują jedno kryterium duże i osiem kryteriów mniejszych. Kryterium dużym jest biopsja z brzegu zmiany, w której dominuje naciek zapalny z neutrofilami. Kryteria mniejsze to: 1) wykluczenie infekcji, 2) zjawisko patergii, 3) choroba zapalna jelit, czy zapalenie stawów w wywiadzie pacjenta, 4) grudka, krostka lub pęcherzyk, który ulega owrzodzeniu w ciągu 4 dni od pojawiania się, 5) obwodowy rumień, podminowane granice owrzodzenia i tkliwość okolicy owrzodzenia, 6) liczne owrzodzenia, z których przynajmniej jedno zlokalizowane jest na przedniej powierzchni podudzia, 7) charakterystyczna blizna po wygojeniu owrzodzenia, której wygląd w literaturze opisuje się jako przypominającą „powierzchnię mózgu” czy „pomarszczony papier”, 8) zmniejszenie się owrzodzenia w ciągu 1 miesiąca po włączeniu leczenia immunosupresyjnego. Aby rozpoznać chorobę wymagane jest spełnienie jednego kryterium dużego i czterech mniejszych. Powyższe kryteria mają czułość na poziomie 86% i swoistość 90%, dlatego też uważa się, że są to obecnie kryteria zalecane w diagnostyce PG [87]. Kolejnymi nowymi kryteriami, które ukazały się w 2018 r. i mogą stać się pomocnym narzędziem w diagnostyce PG jest skala PARACELSUS. Trzy kryteria duże to: gwałtowny przebieg choroby, ocena i wykluczenie istotnych chorób w

diagnostyce różnicowej, czerwono-fioletowy brzeg rany (obecny u około 98% pacjentów z PG). Do mniejszych kryteriów (obecnych u 61-95 % pacjentów z PG) należą: poprawa po lekach immunosupresyjnych, charakterystyczny, nieregularny brzeg owrzodzenia, duża bolesność tj. powyżej 4/10 w skali analogowej oraz lokalizacja zmiany w miejscu wcześniejszego urazu (patergia). Trzy dodatkowe kryteria (obserwowane u ok. 60% pacjentów z PG) to ropny naciek zapalny w histologii, podminowany brzeg owrzodzenia i obecność dodatkowych chorób współistniejących. Całkowita liczba punktów 10 i więcej wskazuje z dużym podobieństwem na PG i pozwala zróżnicować owrzodzenie w pioderмии zgorzelinowej z owrzodzeniem żylnym. Początkowe litery w języku angielskim tworzą akronim PARACELSUS (**progressing** disease- postępująca choroba, **absence** of relevant differentia diagnoses- brak innej choroby z diagnostyki różnicowej, **reddish**, violaceous wound border- czerwony, silnie zapalny brzeg zmiany, **amelioration** by immunosuppressant drugs- poprawa po leczeniu immunosupresyjnym, **characteristically** irregular shape of ulceration-charakterystyczny nieregularny brzeg owrzodzenia, **extreme** pain- bardzo nasilona bolesność zmian, **localization** of lesion at site of trauma-lokalizacja zmian w miejscu uprzedniego urazu, **suppurative** inflammation in histopathology- ropny naciek w histologii, **undermined** wound margins- podminowane brzegi owrzodzeń, concomitant **systemic** disease-współistnienie chorób towarzyszących) [88].

We wszystkich cytowanych powyżej kryteriach dużą rolę odgrywa charakterystyczny obraz kliniczny choroby. W czasie wywiadu z pacjentem należy ustalić początek pojawienia się choroby, wygląd pierwotnej zmiany, szybkość powiększania się owrzodzenia, bolesność owrzodzenia, występowanie bądź brak objawu patergii, historię chorób współtowarzyszących u pacjenta.

Bardzo istotnym wydaje się także pobranie wycinka z brzegu powiększającego się owrzodzenia celem oceny histologicznej. O ile w kryteriach z 2004 roku nie jest to warunek niezbędny do postawienia rozpoznania, o tyle w kryteriach z Delfi jest to jedyne kryterium główne, niezbędne do postawienia rozpoznania. Obraz histologiczny wycinka, mimo że niespecyficzny dla PG, pozwala wykluczyć inne choroby o zbliżonym obrazie klinicznym. Biopsja jest wskazana zwłaszcza u pacjentów bez wywiadu chorobowego PG i u chorych z rozpozną wcześniej PG, gdy obraz nowo powstających zmian jest atypowy lub u takich pacjentów, u których nie ma odpowiedzi na terapię. Część klinicystów obawia się pobierania wycinka w związku z występowaniem zjawiska

patologii, jednak konieczność wykluczenia innych chorób w diagnostyce różnicowej i ustalenie właściwego postępowania terapeutycznego jest nadrzędne. Do biopsji pobiera się przez eliptyczne wycięcie fragment zmiany, który zawiera tkankę zapalną z otoczenia i owrzodzenie razem z podskórną tkanką tłuszczową. Pobrana tkanka powinna zostać przesłana do oceny histologicznej wraz z barwieniem mikrobiologicznym. Dodatkowo należy pobrać wymaz celem wykluczenia infekcji bakteryjnej, grzybiczej czy infekcji atypowymi mykobakteriami. Wycinki pobrane z wczesnych zmian PG prezentują naciek okołomieszkowy i tworzący się ropień śródskórny. Owrzodzenia w rozwiniętej PG wykazują martwicę naskórka i powierzchownych warstw skóry właściwej oraz złożony naciek z komórek zapalnych oraz formujący się ropień. Mogą też być widoczne komórki olbrzymie i zmiany naczyniowe o typie limfocytowego zapalenia naczyń lub rzadziej można obserwować także obecne leukocytoklastyczne zapalenie naczyń [89].

Co ciekawe, w badaniu immunofluorescencji bezpośredniej nie ma specyficznych cech, które mogłyby wskazywać na piodermię zgorzelinową. Czasem wykonuje się to badanie celem wykluczenia chorób pęcherzowych, tocznia czy zapalenia naczyń, które także mogą być przyczyną owrzodzeń [86].

Nie istnieją także badania laboratoryjne, które miałyby swoistą wartość diagnostyczną w rozpoznawaniu PG. Pewne badania mogą mieć znaczenie przy wykluczaniu poszczególnych jednostek w diagnostyce różnicowej np. przeciwciała przeciwjądrowe, by wykluczyć toczeń rumieniowaty układowy, przeciwciała przeciw neutrofilom- celem wykluczenia ziarniakowego zapalenia naczyń jako przyczyny owrzodzenia, przeciwciała antyfosfolipidowe, by wykluczyć zespół antyfosfolipidowy oraz czynnik RF- celem oceny ewentualnego współistnienia krioglobulinemii czy reumatoidalnego zapalenia stawów. W badaniach dodatkowych u chorych z PG można spodziewać się leukocytozy, obecności podniesionego OB oraz CRP.

2.6.2. Diagnostyka różnicowa piodermii zgorzelinowej

W związku z trudnościami diagnostycznymi piodermii zgorzelinowej mogą pojawić się pomyłki. Brakuje jednak retrospektywnych badań oceniających częstość nieprawidłowej diagnozy w przypadku PG.

W diagnostyce różnicowej bierze się pod uwagę, zmiany naczyniowe, zapalenie naczyń, rozrosty nowotworowe, owrzodzenia polekowe, chłoniaki skórne, infekcyjne choroby skóry, owrzodzenia w przebiegu chorób autoimmunologicznych m.in. zespół antyfosfolipidowy czy toczeń rumieniowaty układowy, krioglobulinemię, martwicze zapalenie powięzi, sporotrychozę [90].

Duży nacisk w dostępnej literaturze kładzie się na różnicowanie z martwiczym zapaleniem powięzi. Wynika to z faktu, że obie jednostki chorobowe mają podobny klinicznie przebieg, ale wymagają odmiennego leczenia. Martwicze zapalenie powięzi jest ostrą infekcją podskórnej tkanki łącznej szerzącą się wzdłuż powięzi, w której czynnikiem sprawczym jest flora bakteryjna o charakterze mieszanym. Choroba ta wymaga oczyszczenia chirurgicznego rany i włączenia antybiotyków o szerokim spektrum działania, podczas gdy w leczeniu PG stosuje się leki immunosupresyjne. Z tego powodu pomyłka terapeutyczna może stanowić nawet zagrożenie dla zdrowia i życia pacjenta. W dostępnej literaturze nie brakuje publikacji i opisów przypadków omawiających to zagadnienie [90,91,92].

2.6. Leczenie piodermii zgorzelinowej

W leczeniu piodermii zgorzelinowej nie ma ujednoczonego, powszechnie stosowanego algorytmu terapeutycznego. Wpływ na wybór terapii ma stopień zaawansowania choroby, w tym przede wszystkim rozległość owrzodzenia. Bardzo ważne jest właściwe prowadzenie dokumentacji każdego przypadku obejmujące liczbę zmian, lokalizację. Warto też zrobić zdjęcia fotograficzne owrzodzeń przed podjęciem właściwego leczenia.

Przy bardzo niewielkich i łagodnych zmianach poprawę może przynieść leczenie miejscowe, jednak zazwyczaj niezbędna jest terapia ogólna. Podstawą każdego leczenia musi być prawidłowa pielęgnacja owrzodzeń, tak aby zapewnić optymalne środowisko do gojenia się owrzodzenia. Rany można przemywać solą fizjologiczną lub łagodnymi antyseptykami przed zmianą opatrunku. Opatrunki powinny być dostosowane do rodzaju obecnego owrzodzenia np. przypadku zmian z dużą ilością wydzieliny korzyść mogą przynieść opatrunki absorbujące np. z alginianami [14]. W związku z występującym zjawiskiem patergii należy unikać traumatyzacji tkanek m.in. oczyszczenia chirurgicznego rany [93]. W razie wystąpienia cech infekcji rany np. gorączki, obrzęku

czy nieprzyjemnego zapachu z rany, należy rozważyć włączenie antybiotykoterapii ogólnej.

Analizując dostępne piśmiennictwo, pomimo braku powszechnie akceptowanego terapeutycznego algorytmu, systemowe glikokortykosteroidy i cyklosporyną są uważane za pierwszą linię leczenia. Prednizon w dawce 0,5-1 mg.kg m.c zwykle przynosi szybką poprawę w większości przypadków. W przypadku szybkiej progresji choroby należy rozważyć stosowanie pulsów glikokortykosteroidów. Cyklosporyna w dawce między 3 a 10 mg/kg/dobę pozwala uzyskać szybką poprawę. Randomizowane kontrolne badania dotyczące leczenia cyklosporyną czy prednizonem nie wykazały istotnych różnic między czasem gojenia po 6 tyg. leczenia glikokortykosteroidami czy terapią o takiej samej długości z zastosowaniem cyklosporyny [94].

W retrospektywnej analizie z 2016 roku przeprowadzonej w grupie 121 pacjentów cyklosporyna, azatiopryna i mykofenolan mofetilu były najczęściej używanymi lekami immunosupresyjnymi, poza tym ok. 99 % pacjentów otrzymała terapię systemowymi glikokortykosteroidami. Ponadto u około 15% pacjentów stosowano leczenie biologiczne i dożylnie immunoglobuliny [94]. W przypadkach łagodnych najczęściej stosuje się miejscowe lub śródskórne glikokortykosteroidy, miejscowy tacrolimus lub miejscową cyklosporynę. Miejscowe leczenie może być stosowane w monoterapii lub adjuwantowo do leczenia systemowego. W małym badaniu dotyczącym 5 pacjentów, takrolimus użyty w monoterapii spowodował pełną remisję po ok. 6 tyg. Wydaje się więc być skuteczną opcją dla słabiej nasilonych przypadków [95].

Marzano i wsp. zaproponowali uproszczony kliniczno-terapeutyczny algorytm. Polega on na tym, że pojedyncze zlokalizowane owrzodzenie może być leczone miejscowymi preparatami, podczas gdy choroba przebiegająca z mnogimi zmianami lub rozsiana powinna być leczona systemową terapią np. prednizonem w monoterapii lub w kombinacji z cyklosporyną. Dla przypadków opornych należy użyć w terapii leków z II i III linii leczenia. W terapii miejscowej dla zlokalizowanej, świeżo wykrytej PG wykazano skuteczność miejscowego takrolimusu [96]. W badaniu prospektywnym z użyciem takrolimusu w stężeniu 0,03% i 0,1 % oraz klobetazolu 0,05 %, aż 44% pacjentów uzyskało remisję na leczeniu miejscowym w ciągu 6 miesięcy, podczas gdy 33% wymagało terapii systemowej [97].

W przypadku niewystarczającej odpowiedzi na leczenie glikokortykosteroidami ogólnymi i cyklosporyną, infliksimab wydaje się być najlepszą opcją terapeutyczną. Infliksimab jest chimerycznym monoklonalnym przeciwciałem anty TNF-alfa. Co istotne w przypadku współwystępowania choroby zapalnej jelit i PG infliksimab jest lekiem pierwszego wyboru. Jeśli poprawa owrzodzeń PG jest niewystarczająca po infliksimabie, należy rozważyć włączenie mykofenolanu mofetilu, plazmaferezę i dożylną immunoglobulinę [96]. Immunoglobuliny u pacjentów z piodermią zgorzelinową stanowią dobrą opcję terapeutyczną w przypadku pacjenta, który ma duże ryzyko infekcji, współistniejący nowotwór, a także w sytuacjach szybkiego postępu choroby. Podawanie immunoglobulin jest czasochłonne i kosztowne, dlatego po uzyskaniu poprawy często immunoglobulinę zastępuje się innym lekiem [98]. W leczeniu wspomagającym PG, można także stosować leki działające anty-neutrofilowo np. kolchicynę czy dapson, zwykle jednak nie stosuje się ich w monoterapii. Minocyklina czy inne tetracykliny również mogą być zastosowane, gdyż wykazują efekt przeciwzapalny [14].

2.8 Interleukiny- krótka charakterystyka i ich rola w organizmie człowieka

Interakcje między układem odpornościowym i komórkami zapalnymi są mediowane przez dużą grupę protein nazywanymi interleukinami, które pobudzają wzrost komórek, ich różnicowanie i aktywność. Interleukiny mogą wybiórczo pobudzać odpowiedź komórkową lub humoralną. Substancje te wpływają nie tylko na leukocyty, ale także na inne komórki organizmu, stymulując powstawanie gorączki, regulując morfogenezę, mogą wykazywać działanie cytotoksyczne, a także stymulować chemotaksję neutrofilów. Cytokiny są wytwarzane w organizmie w odpowiedzi na patogeny czy inne antygeny, które mediują reakcję zapalną i odpowiedź immunologiczną organizmu. Produkcja interleukin jest samoograniczającym się procesem, molekuly te są wydzielane natychmiast po zsyntetyzowaniu. Interleukiny stanowią niejednorodną grupę cytokin peptydów i małowczątkowych białkami, których masa oscyluje od 5 do 20 kDa [99].

Od czasu odkrycia interleukiny 1 w 1977 r. do 2016 r. ukazało się około 360000 naukowych publikacji dotyczących interleukin, obrazuje to jak dynamicznie rozwija się wiedza o tych cząsteczkach. Interleukiny oceniane są na podstawie homologii sekwencyjnej, podobieństwa łańcuchów receptorowych i funkcji które spełniają w organizmie [100].

Interleukiny wydzielane są głównie przez aktywowane komórki układu immunologicznego m.in. limfocyty T, B, NK, makrofagi, komórki Langerhansa. Substancje te w odróżnieniu od hormonów przekazują informacje między komórkami na małe odległości co pozwala na ich bardziej specyficzne i wybiórcze działanie [99].

Działanie cytokin jest plejotropowe czyli wielokierunkowe. Mogą wykazywać działanie prozapalne jak i przeciwzapalne. Do interleukin prozapalnych należą Il-1, Il -6, Il-8, Il-15, Il-17, Il-18, Il-22, Il-23, Il-36. Do grupy interleukin przeciwzapalnych należą Il-4, I-10, Il-13 [99]. Cytokiny działają za pośrednictwem receptorów. Receptory te posiadają fragment zewnątrzłonowy na komórce docelowej, który wiąże daną cytokinę. Czasem, gdy receptor ma mniejszą swoistość, może on wiązać inne cząsteczki o podobnej budowie. Wyróżniamy cztery klasy receptorów:

- receptory z własną kinazą tyrozynową czyli receptorowe kinazy tyrozynowe,
- receptory działające za pośrednictwem kinaz tyrozynowych znajdujących się wewnątrz komórki w ramach innych struktur,
- receptory serpentynowe,
- receptory posiadające własną kinazę serynowo-treoninową [101].

Do roku 2010 opisano 37 interleukin, które ze względu na ich różne cechy biologiczne, w tym zróżnicowanie molekularne i ich strukturę, zgrupowano w trzy rodziny. Pierwsza– bez nazwy – obejmuje dwie podrodziny, to jest podrodzinę interleukiny 2, do której zalicza się IL-3-7, 9, 11-15, 21, 23, 30 oraz takie substancje jak CSF (colony-stimulating factor), LIF (leukemia inhibitory factor), prolaktynę oraz podrodzinę interferonów (IFN), która reprezentowana jest przez INF- α i INF- β . Drugą rodzinę tworzy IL-1 obejmująca: IL-1 α , IL-1 β oraz IL-18 wraz z ich pochodnymi. Natomiast do trzeciej rodziny zalicza się interleukinę 17A, B, C, D, F oraz IL-8, 25 i 27, a także IL-31, 32 i 33 [102].

Od tego czasu liczba opisanych interleukin stale wzrasta. Akdis i wsp. opisuje już 38 interleukin w 2016 r. [100]. W roku 2018 w dostępnej literaturze istnieją już opisy interleukiny 39 i 40, a liczba opisywanych interleukin stale rośnie [103]. Poniżej przedstawiono podstawowe informacje dotyczące badanych interleukin.

2.8.1. Interleukina 6

Interleukina 6 jest cytokiną prozapalną o plejotropowym mechanizmie działania. Jest ona produkowana w odpowiedzi na infekcje, urazy tkanek i przyczynia się do obrony gospodarza przez stymulację produkcji białek ostrej fazy, hematopoezy i odpowiedzi immunologicznej (w tym różnicowanie limfocytów B) [104]. Interleukina 6 należy do rodziny cytokin wykorzystujących receptory złożone z 2 podjednostek: wspólnego białka gp130, który przekazuje komórce sygnał aktywacyjny i łańcucha alfa, który wiąże swoiście daną cytokinę. Istnieją dwa dostępne receptory dla Il-6 tj. rozpuszczalny i błonowy. Komórki posiadające błonowy receptor dla Il-6 czyli Il-6 R, wiążą się z nią i mogą bezpośrednio na nią odpowiadać przez transdukcję sygnału do wnętrza komórki. [105]. Za produkcję interleukiny 6 odpowiedzialne są limfocyty T i B, fibroblasty i makrofagi, a komórkami efektorowymi są limfocyty B i hepatocyty. Głównym czynnikiem stymulującym jej wytwarzanie jest Il-1 i TNF –alfa [105].

W początkowym stadium zapalenia interleukina 6 jest syntetyzowana lokalnie, następnie przez krwioobieg dociera do wątroby, co powoduje szybki wzrost produkcji białek ostrej fazy takich jak CRP, surowiczy amyloid A, fibrynogen, haptoglobina i alfa1-antychemotrypsyna. Cytokina ta ma wpływ na wzrost ciepłoty ciała i występowanie stanów gorączkowych. Jednocześnie Il-6 redukuje produkcję fibronektyny, albumin i transferyny [104]. Il-6 jest zaangażowana także w regulację poziomu żelaza i cynku przez kontrolowanie ich transportu, przyczyniając się do obniżenia ich stężenia, co jest charakterystyczne dla stanu zapalnego [106,107].

Interleukina 6 oddziałuje także na szpik kostny, stymulując dojrzewanie megakariocytów, co prowadzi do uwalniania płytek krwi i nadpłytkowości odczynowej związanej ze stanem zapalnym organizmu. Co więcej Il-6 promuje różnicowanie się natywnych CD 4+ T komórek, a razem z (TGF)- β jest niezbędna do produkcji Th 17 [104]. Il-6 aktywuje także komórki śródbłonna, wzmaga syntezę metaloproteinaz. Ponadto aktywuje RANKL w szpiku, co prowadzi do pobudzenia aktywności osteoklastów oraz do resorpcji kości i może przyczyniać się do powstawania osteoporozy [108]. Il-6 indukuje produkcję VEGF, prowadząc do wzmożonej angiogenezy, zwiększa przepuszczalność naczyń [104].

Istotna jest rola jaką Il-6 odgrywa w patogenezie chorób autoimmunologicznych. Gdy Il-6 jest syntetyzowana przejściowo, a wywierany przez nią efekt prowadzi do obrony organizmu przed infekcją czy urazem. Gdy źródło stresu zostaje usunięte aktywacja mediowana przez Il-6 jest wygaszana dzięki systemowi regulacji negatywnej. Jednakże utrzymujące się dysregulacje w produkcji Il-6 mają wpływ na powstawanie różnych przewlekłych chorób autoimmunologicznych, a nawet nowotworów [109].

2.8.2 Interleukina 8

Interleukina-8, inaczej CXCL8 należy do grupy chemokin i jest homodimerem, o masie 16 kDa, syntetyzowanym m.in przez monocyty, makrofagi, neutrofile, limfocyty, komórki endotelialne, fibroblasty, keratynocyty, chondrocyty, hepatocyty, komórki mięśni gładkich. Receptory dla Il- 8 to CXCR1 i CXCR2. Interleukina ta oddziałuje na neutrofile, komórki NK, komórki T, bazofile, eozynofile, mastocyty, monocyty i komórki endotelialne [100].

Gen kodujący Il-8, który znajduje się w chromosomie 4q12-q13 [42], składa się z czterech eksonów i trzech intronów [110]. Interleukina-8 jest pierwotnie syntetyzowana jako peptyd złożony z 99 aminokwasów, którego rozłam enzymatyczny i N-końcowa proteoliza prowadzi do pojawienia się aktywnych izoform Il-8. Finalnie Il-8 jest mieszkanką dwóch polipeptydów ser-II-8 składająca się z 72 aminokwasów i ala-II-8 składająca się z 77 aminokwasów [111].

Do najistotniejszych funkcji interleukiny-8 należy aktywacja neutrofilów, ich chemotaksja, degranulacja i uwolnienia enzymów lizosomalnych. [112]. Interleukina 8 posiada także inne biologiczne funkcję, w tym jest też potencjalnym mediatorem angiogenezy [113].

Il-8 stymuluje proliferację śródbłonka i proliferację kapilar in vitro w schemacie zależnym od dawki, a oba te efekty mogą być blokowane przez monoklonalne przeciwciała dla Il-8 [114]. Raportowano, że interleukina 8 promuje progresję raka piersi, poprzez indukowanie wzrostu nacieku komórkowego, stymulując angiogenezę oraz powstawanie przerzutów [115].

Interleukina 8 odgrywa rolę w etiopatogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów, łuszczycy, bakteryjnych i wirusowych infekcjach, przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc, nowotworach, ostrej białaczce szpikowej, zespołach mielodysplastycznych. Odgrywa także rolę w chorobach zapalnych oka. Różne patogeny

takie jak wirus HIV i mycobacterium tuberculosis indukują produkcję Il-8 przez monocyty i makrofagi [100].

Ponadto postuluje się rolę interleukiny 8 w patogenezie zespołu metabolicznego. Stężenie Il-8 powiązane jest z wartością wskaźników BMI, WHR i odsetkiem tkanki tłuszczowej w organizmie i jest wyższe u osób otyłych. Obserwowano, że glukoza w wysokim stężeniu w surowicy u pacjentów z cukrzycą może stymulować produkcję Il-8 i sekrecję z komórek endotelialnych [116].

2.8.3. Interleukina 17

Rodzina interleukiny 17 to grupa cytokin, która bierze udział w różnych procesach zapalnych. Cytokiny te są odpowiedzialne za różnorodne procesy autoimmunologiczne, reakcje alergiczne i reakcje obrony gospodarza. Interleukina 17, nazywana również Il-17A, a także inaczej CTLA-8, jest najbardziej znaną i przebadaną interleukiną z całej rodziny [117]. Odkryto że Il-17 jest cytokiną produkowaną przez komórki Th-17, jednak inne komórki układu immunologicznego m.in. kom NK, neutrofile, mogą także produkować Il-17 na wczesnym etapie odpowiedzi immunologicznej [118].

Na początku XXI wieku zidentyfikowano kilka protein strukturalnie powiązanych do Il-17-A: m.in. Il-17B, Il-17C, Il-17D, Il-17E oraz Il-17F. Razem te interleukiny są znane jako rodzina Il-17 [119].

Receptor dla Il-17 został odkryty w 1995 r. jako Il-17R, następnie odkryto istnienie innych podjednostek, które nazwano Il-17RA do Il-17RE i które razem sklasyfikowano do nowej klasy receptorów – receptory dla rodziny Il-17.

Interleukina 17 to wyjątkowo plejotropowa cytokina o silnych właściwościach prozapalnych. Najważniejszą rolą Il-17 jest mediowanie odpowiedzi prozapalnej. Il-17 indukuje produkcję wielu innych cytokin takich jak Il-6, G-CSF, GM-CSF, IL-1 β , TGF- β , TNF- α), chemokin (w tym IL-8, GRO- α , and MCP-1), i prostaglandyn (np. PGE₂) [119]. Powszechnie wiadomo jest, Il-17 może aktywować ścieżkę związaną z czynnikiem jądrowym NF- κ B i że ta ścieżka jest zależna od receptora dla TNF powiązanego z czynnikiem 6 (TRAF6) [119].

W dostępnej literaturze opisuje się udział Il-17 w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów, stwardnieniu rozsianym, chorobach zapalnych jelit, łuszczycy, astmie, atopowym zapaleniu stawów, kontaktowej nadwrażliwości, chorobie przeszczep przeciw

gospodarzowi. W leczeniu ciężkiej łuszczycy zastosowano secukinumab, iksekizumab i brodalumab czyli rekombinowane ludzkie przeciwciała monoklonalne wiążące Il-17A [100].

W reumatoidalnym zapaleniu stawów Il-17 razem z Il-6 i Il-8 prowadzi do zapalenia chrząstek stawowych [120]. Działając w płucach, w przebiegu POCHP lub astmy oskrzelowej Il-17 pobudza fibroblasty i makrofagi do sekrecji GM-CSF, TNF-alfa, Il-1beta, Il-6 oraz Il-11 [99]. Po przeszczepach narządów komórki T pochodzące od dawcy wydzielają Il-17A, która może przyczynić się do mediowania choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi [121].

Jak już wyżej wspomniano, Il-17 oddziałuje silnie na keratynocyty. Do funkcji Il-17 na poziomie naskórki należą wywieranie działania chemotaktyczne, stymulowanie podziału keratynocytów i ich różnicowania, indukcja produkcji chemokin i czynników wzrostu. Pod wpływem Il-17 zmniejsza również produkcję filagryny i w ten sposób interleukina ta może się przyczyniać do osłabienia bariery skórno-naskórkowej [119]. W nowych badaniach rośnie także liczba dowodów na rolę Il-17 w patogenezie raka. Interleukina ta może potencjalnie stymulować nowotworzenie przez wzrost proliferacji, pobudzanie angiogenezy i indukcję przerzutów. Il-17 pobudza wydzielanie tlenu azotu, prostaglandyn, naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu(VEGF) oraz białka zapalnego makrofagów, a czynniki te działają pobudzająco na waskularyzację [122].

2.8.4. Interleukina 23

Interleukina 23 (IL-23) jest prozapalną interleukiną składającym się z dwóch podjednostek – p19 i p40. Należy ona do podrodziny interleukiny 12. Podjednostka p40 jest wspólna dla Il-23 i Il-12. Il-23 i Il-12 mają jednak różne receptory i wywierają różny efekt. Receptor dla Il-23 to Il-23R składa się z dwóch podjednostek t. j. Il23R α i IL-12R β 1. Receptory dla Il-23 wykazują ekspresję na duże ilości komórek m.in. komórki NK, makrofagi, komórki dendrytyczne, komórki T pamięci i keratynocyty [123,124]. Il-23 jest produkowana głównie przez komórki dendrytyczne i aktywowane makrofagi. Jej najważniejszą funkcją jest aktywowanie komórek Th-17 oraz produkcji przez nie Il-17A, a także aktywowanie cytotoxyczności limfocytów T. Aktywowano komórki Th-17 produkują nie tylko Il-17 A, ale także Il-17F, Il-6, Il-22, TNF α oraz GM-CSF. Makrofagi w stanie zapalnym wykazują ekspresję Il-23R i aktywowane przez Il-23 produkują Il-1, TNF- α , samą IL-23. Te efekty powodują, że Il-23 jest centralną cytokiną prozapalną.

IL-23 identyfikuje się w skórze pacjentów z łuszczycą, w jelitach chorych na przewlekłą chorobę zapalną jelit, w błonach maziowych chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Jest zaangażowana w osteoklastogenezę, niezależnie od IL-17 przez indukcję ekspresji RANKL [123]. IL-23 ma również wpływ na krwiotworzenie, pobudzając w tym celu wytwarzanie neutrofilów i płytek krwi. Ma silnie indukujący wpływ na powstawanie białek ostrej fazy.

Ustekinumab hamuje IL-12 i IL-23 blokując podjednostkę p40 i znajduje zastosowanie w leczeniu łuszczycy i łuszczycowego zapalenia stawów oraz w chorobie Crohna [123]. Ponadto postuluje się udział IL-23 w atopowym zapaleniu skóry, astmie i stwardnieniu rozsianym oraz infekcjach wirusowych bakteryjnych i grzybiczych [124]. W nowych badaniach wykazano także udział IL-23 w patogenezie zawału serca i procesie reperfuzy, choć jej rola nie została w pełni wyjaśniona [125]. Co ciekawe obserwowano również zmiany stężenia IL-17 jak i IL-23 we krwi obwodowej u pacjentów z autoimmunizacyjną chorobą tarczycy. Istotne statystycznie korelacje zachodzące między stężeniem IL-23 a poziomem przeciwciał TRAK i anty-TPO świadczą o związku działania tej cytokiny z produkcją przeciwciał przeciw tarczycowym [126].

3. ZAŁOŻENIA I CELE PRACY

Na przestrzeni ostatnich lat doszło do postępu i rozwoju inżynierii genetycznej oraz biologii molekularnej, co umożliwia badanie funkcji i roli specyficznych interleukin oraz ich wpływu na patogenezę różnych chorób. Co więcej, patrząc w przyszłość rodzi się nadzieja szerszego zastosowania leków biologicznych, które będą coraz częściej zastępować konwencjonalne terapie. Leki te oddziałując na wybrane etapy przebiegu procesu zapalnego, mogą działać bardziej wybiórczo i specyficznie niż leki konwencjonalne, niosące ze sobą duże zagrożenia działaniami niepożądanymi.

Jedną z takich chorób, w której rola interleukin wydaje się odgrywać istotne znaczenie jest piodermia zgorzelinowa. Patogeneza tej choroby jest nadal niejasna, pozostaje więc pole do prowadzenia badań pogłębiających wiedzę na temat tej jednostki chorobowej. Badania nad piodermią zgorzelinową wykazują, że w chorobie stwierdza się wiele zaburzeń immunologicznych. Potencjalne źródła nieprawidłowego stanu zapalnego to neutrofile, limfocyty T, inflamosomy, apoptoza keratynocytów czy zmiany epigenetyczne. Badania ostatnich lat skupiają się na roli limfocytów i mediatorów stanu zapalnego, podejmując istotną rolę cytokin, w patogenezie choroby.

W niniejszej pracy wysunięto założenie, że w etiopatogenezie piodermii zgorzelinowej odgrywają rolę interleukiny prozapalne: Il-6, Il-8, Il-17 i Il-23.

Poniższe badania są analizą przypadków piodermii zgorzelinowej Kliniki Dermatologii Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Co istotne, jeśli założenia się potwierdzą to istnieje szansa, że interleukiny mogłyby stać się markerami laboratoryjnymi, parametrami aktywności choroby, a także mieć znaczenie w rokowaniu przebiegu i monitorowaniu leczenia.

Potencjalną korzyścią z pogłębienia wiedzy na temat piodermii zgorzelinowej wydaje się być szansa nowych opcji terapeutycznych oddziałujących na określone interleukiny (np. inhibitory określonych interleukin) czy też inhibitorów aktywacji limfocytów T.

Jest to tym ważniejsze, że obecne konwencjonalne metody leczenia piodermii zgorzelinowej m.in. glikokortykosteroidy czy cyklosporyna, niosą duże ryzyko działań niepożądanych.

CELE PRACY

1. Ocena i analiza stężenia wybranych interleukin w surowicy krwi pacjentów (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23).
2. Poszukiwania korelacji wybranych interleukin (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23) z wybranymi parametrami morfologicznymi i biochemicznymi w surowicy krwi chorych na PG.
3. Analiza na podstawie wywiadu zebranego od pacjenta częstości występowania i rodzaju chorób współistniejących.
4. Określenie częstości występowania patergii jako czynnika prowokującego chorobę.

4. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

4.1. Materiał

Projekt badania otrzymał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej i został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (nr opinii KB – 448/2018). Zarówno chorzy z grupy badawczej jak i osoby z grupy kontrolnej zostali poinformowani ustnie i pisemnie o założeniach, celach i metodach badania, wyrazili pisemną zgodę na udział w badaniu oraz zgodę na przetwarzanie danych osobowych wg wzoru Komisji Bioetycznej. W załącznikach umieszczono wzór pisemnej informacji o badaniu, wzór zgody na przetwarzanie danych osobowych, wzór zgody badanego na udział w badaniu oraz wzór ankiety przeprowadzanej przez autorkę z 48 pacjentami z piodermią zgorzelinową (załącznik 1,2,3,4).

4.1.1. Grupa badawcza

W badaniu wzięło udział 48 niespokrewnionych chorych na piodermię zgorzelinową, którzy byli hospitalizowani w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2015- 2019 r. z powodu pojawienia się choroby. Grupę badawczą stanowiło 17 mężczyzn i 31 kobiet, co stanowiło 35,4% mężczyzn i 64,6 % kobiet. Wiek pacjentów mieścił się w przedziale od 19 do 85 lat, średnia wieku wynosiła 51,3 lata.

Warunki niezbędne do kwalifikacji pacjentów do badania:

-charakterystyczny dla piodermii zgorzelinowej początek, przebieg choroby i obraz kliniczny nie budzący wątpliwości diagnostycznych,

-brak w dotychczasowej terapii leczenia ogólnego.

U większości pacjentów choroba została potwierdzona badaniem histologicznym, jednak w poszczególnych przypadkach odstąpiono od niego ze względu na odmowę pacjenta, przy jednoczesnym klasycznym obrazie i przebiegu choroby.

4.1.2 Grupa kontrolna

Grupę kontrolną stanowiło 40 zdrowych osób, mieszkańców Wrocławia i Dolnego Śląska. Grupa składała się z 19 mężczyzn i 21 kobiet, co stanowiło 47,5 % mężczyzn i 52,5 % kobiet. Wiek wahał się w granicach 24-84 lata, ze średnią wieku 48,1 lat.

4.2 Metody badań

Od każdego uczestnika badania zebrano szczegółowy wywiad lekarski, a także dokonano badania przedmiotowego wraz z oceną wyglądu zmian skórnych, ponadto na czczo pobrano jedną próbkę krwi do próbki separacyjnej (SST) o objętości 5,5 ml do badania immunoenzymatycznego (test ELISA) oraz próbkę biochemiczną o objętości 5,5 ml do badań biochemicznych. Procedury omówione powyżej wykonywał personel medyczny

ubezpieczony od odpowiedzialności cywilnej. Z punktu widzenia etycznego badanie nie niosło ryzyka uszczerbku na zdrowiu, gdyż wiązało się jedynie z pobieraniem dodatkowej próbki krwi w czasie hospitalizacji pacjenta, przy okazji pobierania jej na inne rutynowe badania.

4.2.1. Kliniczna ocena chorych

4.2.1.1 Wywiad lekarski

Wywiad lekarski przeprowadzany z każdym pacjentem dotyczył początku pojawienia się zmian skórnych i dotychczasowego przebiegu choroby skóry zgorzeli oraz dynamiki procesu chorobowego. Pytano także o czynniki indukujące początek choroby takie jak urazy (dokładny rodzaj urazu, w tym ugryzienia, ukłucia czy poparzenia, skaleczenie) oraz o dotychczasową diagnostykę i przebieg leczenia. Poza tym uzyskano też informacje odnośnie przewlekłych chorób współistniejących, przebytych, obciążenia rodzinnego, stosowanych leków oraz używek.

4.2.1.2 Badanie przedmiotowe z oceną zmian skórnych

U każdego pacjenta opisywano dokładną lokalizację i liczbę owrzodzeń, a także wygląd zmiany, w tym obecność martwicy w owrzodzeniu, kolor wysięku, oraz kolor i wygląd brzegu zmian.

Następnie liczone pole powierzchni zajmowanej przez owrzodzenie lub łączne pole powierzchni w przypadku owrzodzeń mnogich. Przykładowo w przypadku owrzodzeń o kształcie elipsy korzystano z wzoru $P = \pi \cdot a \cdot b$, gdzie a to długość najdłuższej półosi, a parametr b oznacza długość najkrótszej półosi elipsy.

4.2.2 Metody badań stężenia interleukin prozapalnych

4.2.2.1 Pobieranie próbki do badań i jej przechowywanie

Od każdego uczestnika badania pobrano rano na czczo w godzinach 8.00-10.00, w warunkach spoczynku, krew żylną z żyły łokciowej o objętości ok. 5,5 ml do próbówki separacyjnej (SST). Po pobraniu próbówka z krwią była transportowana do Pracowni Immunologicznej w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii UW we Wrocławiu. Po przechowywaniu ok. 30 min w warunkach temperatury pokojowej i wytworzeniu skrzepu, próbówki poddawano wirowaniu przez 15 min przy obrotach 3 000 obr./min, a następnie surowica została oddzielona od elementów morfotycznych krwi. Do momentu wykonania badań surowicę przechowywano w zamrażarce niskotemperaturowej Platinum 340 w temperaturze -72 stopnie C.

4.2.2.2. Metoda oznaczania stężenia cytokin prozapalnych

Stężenie wszystkich cytokin prozapalnych oznaczano metodą reakcji immunoenzymatycznej ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), w tym celu wykorzystując gotowe zestawy ELISAQuantikine® (R&D Systems®, USA). Przeprowadzone badania cytokin wykonano zgodnie z protokołami producentów odczynników i zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej. Stężenie cytokin w pobranych próbkach

surowicy krwi oznaczono poprzez pomiar ich gęstości optycznej za pomocą spektrofotometrumikropłytkowego EPOCH (BioTEK[®] Instruments, Inc.,USA). Oznaczeniewykonano przy długości fali 450 nm i długości fali referencyjnej 540 nm. Wartości stężeń dla poszczególnych oznaczeń określano na podstawie krzywych standardowych, automatycznie tworzonych zapomocą oprogramowania Gen5.

4.2.2.3 Oznaczenie stężenia Human IL-6

Stężenie interleukiny Human IL-6 HS w surowicy krwi oznaczano w dwóch powtórzeniach, z zastosowaniem gotowego zestawu Quantikine[®] HS ELISA (R&D Systems[®], USA), numer katalogowy HS600C. Szczegółowy skład zestawu użyty do oznaczeń przedstawiono w tab.1

Tabela nr 1. Szczegółowy skład zestawu Quantikine[®] ELISA Human IL-6 (HS600C, R&D Systems[®], USA), opis oryginalny.

Odczynnik	Numer katalogowy	Opis
Human IL-6 HS Microplate	898933	96 well polystyrene microplate (12 strips of 8 wells) coated with a monoclonal antibody specific for human IL-6.
Human IL-6 HS Standard	898935	Recombinant human IL-6 in a buffered protein base with preservatives; lyophilized.
Human IL-6 HS Conjugate	898935	21 ml/vial of polyclonal antibody specific for human IL-6 conjugated to biotin with preservatives.
Assay Diluent RD1W	895117	11 ml/vial of a buffered protein base with preservatives.
Calibrator Diluent RD5-4	895435	21 ml/vial of a buffered protein base with preservatives.
Streptavidin Polymer-HRP Diluent	898387	21 ml/vial of animal serum with preservatives.
Wash Buffer Concentrate	895003	21 ml/vial of a 25-fold concentrated solution of buffered surfactant with preservative.

Streptavidin Polymer-HRP Diluent (x100)	898350	0,3 ml/vial of animal serum with preservatives
Color Reagent A	895000	12 ml/vial of stabilized hydrogen peroxide.
Color Reagent B	895001	12 ml/vial of stabilized chromogen (tetramethylbenzidine).
Stop Solution	895032	6 ml/vial of 2 N sulfuric acid.
Plate Sealers	N / A	Adhesive strips.

Na początku procedury doprowadzono wszystkie odczynniki i badane próbki do temperatury pokojowej. Następnie wg instrukcji producenta przygotowano:

- bufor płuczący (20 ml stężonego buforu + 480 ml wody dejonizowanej),
- roztwór substratu Color Reagent A+B (R&D Systems[®], USA),
- roztwór Streptavidin Polymer-HRP(1x)
- standardy ludzkiej IL-6: 10 pg/ml, 5 pg/ml, 2,5 pg/ml, 2,25 pg/ml, 0,625 pg/ml, 0,313 pg/ml, 0,156 pg/ml (Human IL-6 Standard 0+ Calibrator Diluent RD5-4).

Do każdej testowanej studzienki płytki mikrofiltracyjnej dodano 100 µl buforu rozcieńczającego próby Assay Diluent RD1-W,(R& D Systems[®] ,USA). Następnie do pierwszych ośmiu studzienek wkroplono 100 µl rozcieńczonych standardów, a do pozostałych dodawano po 100 µl badanych surowic. Zawartość studzienek płytki przykrywano folią dołączoną przez producenta do zestawu i inkubowano przez 2 godz. w temperaturze pokojowej, używając wytrząsarki do mikropłytek, stosując drgania horyzontalne 500±50 rpm.

Następnie płytkę płukano trzy razy, za każdym razem dodając po 0,4ml buforu płuczającego (Wash Buffer, R&D Systems[®], USA). Do pustych i osuszonych studzienek dodawano po 200 µl poliklonalnych przeciwciał przeciw IL-6 połączonych z biotyną (Human IL6 Coniugate, R&D Systems[®], USA) na 1 godz., w temperaturze pokojowej (we wytrząsarce do mikropłytek przy drganiach horyzontalnych 500±50 rpm). Następnie powtórzono procedurę płukania i dodawano po 200 µl roztworu Streptavidin Polymer-HRP(1X) Inkubację prowadzono 30 min. w temperaturze pokojowej, z zastosowaniem wstrząsarki do mikropłytek przy drganiach horyzontalnych 500±50 rpm.

Następnie znów powtórzono procedurę płukania i dodawano po 200 µl roztworu substratu (Color Reagent A+B, R&D Systems®, USA). Inkubowano, jednocześnie chroniąc płytkę przed dostępem światła przez 30 min. w temperaturze pokojowej. Potem zablokowano reakcję enzymatyczną dodając 50 µl roztworu zatrzymującego reakcję (Stop Solution, , R&D Systems®, USA). Zawartość dołków płytki mieszano i przed upływem 30 minut od zatrzymania procesu wykonywano pomiar wartości gęstości optycznej (OD) w każdej studziencie , z zastosowaniem spektrofotometru EPOCH (BioTEK® Instruments, Inc., USA). Pomiar przebiegał przy długości fali 450 nm i długości fali referencyjnej 540 nm. Wartość stężeń dla poszczególnych prób określano według krzywej standardowej czteroparametrycznej (4-PL) utworzonej za pomocą oprogramowania komputerowego Gen 5®.

4.2.2.4 Oznaczenie stężenia Human IL-8

Do oznaczenia stężenia interleukiny Human IL-8 w surowicy krwi, w dwóch powtórzeniach użyto gotowego zestawu Quantikine® HS ELISA (R&D Systems®, USA), numer katalogowy HS800. W tabeli nr 2 załączono szczegółowy skład wykorzystanego zestawu.

Tabela nr 2. Szczegółowy skład zestawu Quantikine® ELISA Human IL-8 (HS800, R&D Systems®, USA), opis oryginalny.

Odczynnik	Numer katalogowy	Opis
Human IL-8 HS Microplate	894082	96 well polystyrene microplate (12 strips of 8 wells) coated with a monoclonal antibody specific for human IL-8.
Human IL-8 HS Standard	894084	Recombinant human IL-6 in a buffered protein base with preservatives; lyophilized.
Human IL-8 HS Conjugate	894083	21 ml/vial of polyclonal antibody specific for human IL-8 conjugated to alkaline phosphatase with preservatives.
Assay Diluent RD1-85	895877	11 ml/vial of a buffered protein base with preservatives.
Calibrator Diluent RD6Z	895466	21 ml/vial of a buffered protein base with preservatives.
Wash Buffer Concentrate	895003	21 ml/vial of a 25-fold concentrated solution of buffered surfactant with preservative.
Color Reagent A	895000	12 ml/vial of stabilized hydrogen peroxide.
Color Reagent B	895001	12 ml/vial of stabilized chromogen (tetramethylbenzidine).
Stop Solution	895032	6 ml/vial of 2 N sulfuric acid.
Plate Sealers	N / A	Adhesive strips.

Początek procedury polegał na doprowadzeniu wszystkich odczynników i badanych próbek do temperatury pokojowej. Następnie przygotowano zgodnie z instrukcją:

- bufor płuczący (100 ml stężonego buforu + 900 ml wody dejonizowanej),
- roztwór substratu Color Reagent A+B (R&D Systems[®], USA),
- standardy ludzkiej IL-8: 64 pg/ml, 32 pg/ml, 16 pg/ml, 8 pg/ml, 4 pg/ml, 2 pg/ml, 1 pg/ml (Human IL-6-8 Standard 0+ Calibrator Diluent RD6Z).

Do każdej ze studzienek płytki mikrofiltracyjnej dodano 100 µl buforu rozcieńczającego próby (Assay Diluent RD1-85, R&D Systems[®], USA). Potem do pierwszych ośmiu studzienek wkropiono 100 µl rozcieńczonych standardów, a do pozostałych dodawano po 100 µl badanych surowic. Zawartość studzienek płytki przykrywano folią dołączoną do producenta i inkubowano przez 2 godz. w temperaturze pokojowej.

Po upływie tego czasu płytkę płukano pięciokrotnie, każdorazowo dodając po 0,4ml buforu płuczącego (Wash Buffer, R&D Systems[®], USA). Do pustych i osuszonych studzienek dodawano po 200 poliklonalnych przeciwciał przeciw IL-8 połączonych z fosfatazą alkaliczną (Human IL8 Coniugate, R&D Systems[®], USA) na czas 1 godz. w temperaturze pokojowej. Potem powtórzono procedurę płukania i dodawano po 50 µl roztworu substratu (Color Reagent A+B, R&D Systems[®], USA). Prowadzono inkubację, jednocześnie chroniąc płytkę przed dostępem światła przez 30 min. w temperaturze pokojowej. Po upływie tego czasu dodano po 50 µl Amplifier Solution do każdego z poszczególnych dołków płytki. Do zablokowania reakcji enzymatycznej wykorzystano roztwór hamujący reakcję (Stop Solution, R&D Systems[®], USA), dodając po 50 µl roztworu do każdego dołka. Zawartość dołków płytki mieszano i przed upływem 30 minut od zatrzymania procesu dokonano pomiaru wartości gęstości optycznej (OD) w każdej studziencie na spektrofotometrze EPOCH (BioTEK[®] Instruments, Inc., USA). Pomiar przebiegał przy długości fali 450 nm i długości fali referencyjnej 540 nm. Wartość stężeń dla poszczególnych prób określano według krzywej standardowej czteroparametrycznej (4-PL) stworzonej za pomocą oprogramowania komputerowego Gen 5[®].

4.2.2.5 Oznaczanie stężenia Human IL-17

Do oznaczenia stężeń interleukiny Human IL-17 w surowicy krwi, w dwóch powtórzeniach, wykorzystano gotowe zestawy Quantikine[®] HS ELISA Human IL-17 (R&D Systems[®], USA), numer katalogowy HS170. Dokładny skład zestawu użyty do oznaczeń przedstawiono w tab. 3

Tabela nr 3. Szczegółowy skład zestawu Quantikine® HS Human IL-17 (HS170, R&D Systems®, USA), opis oryginalny.

Odczynnik	Numer katalogowy	Opis
Human IL-17HS Microplate	898605	96 well polystyrene microplate (12 strips of 8 wells) coated with a monoclonal antibody specific for human IL-17
Human IL-17HS Conjugate	898607	21 ml/vial of polyclonal antibody specific for human IL-17 conjugated to horseradish peroxidase with preservatives.
Human IL-17HS Standard	890581	2/vial of recombinant human IL-17 in a buffered protein base with preservatives; lyophilized.
Assay Diluent RD1-125	896332	11 ml/vial of a buffered protein base with preservatives.
Streptavidin Polymer-HRP100x	898350	0,3 ml of Streptavidin Polymer-HRP in a buffer with preservatives.
Streptavidin Polymer-HRP Diluent	898387	21 ml of a solution with preservatives
Calibrator Diluent RD5-3	895436	21 ml/vial of a buffered protein base with preservatives.
Wash Buffer Concentrate	895003	21 ml/vial of a 25-fold concentrated solution of buffered surfactant with preservative.
Color Reagent A	895000	12 ml/vial of stabilized hydrogen peroxide.
Color Reagent B	895001	12 mL/vial of stabilized chromogen (tetramethylbenzidine).
Stop Solution	895032	6 mL/vial of 2 N sulfuric acid.
Plate Sealers	N / A	Adhesive strips.

Początek procedury polegał na doprowadzeniu wszystkich odczynników i badanych próbek do temperatury pokojowej. Potem postępując zgodnie z instrukcją producenta przygotowano :

- bufor płuczący (20 ml stężonego buforu + 480 ml wody dejonizowanej),
- roztwór substratu Color Reagent A+B (R&D Systems[®], USA),
- roztwór Streptavidin Polymer-HRP(1x),
- standardy ludzkiej IL-17:15 pg/ml, 7,5 pg/ml, 3,75 pg/ml, 1,88 pg/ml, 0,938 pg/ml, 0,469 pg/ml, 0,234 pg/ml, 0 pg/ml Calibrator Diluent RD5-3 (Human IL-17 Standard + Calibrator Diluent RD5-3).

Do każdej testowanej studzienki płytki mikrofiltracyjnej dodano 100µl buforu rozcieńczającego próby (Assay Diluent RD1-125, R&D Systems[®], USA). Następnie do pierwszych ośmiu studzienek wkroplono po 50 µl rozcieńczonych standardów, a do pozostałych dodawano po 50 µl badanych surowic. Zawartość studzienek płytki przykrywano folią wchodzącą w skład zestawu i inkubowano przez 2 godz. w temperaturze pokojowej w wytrząsarce do mikropłytek przy zastosowaniu drgań horyzontalnych 500±50 rpm.

Po upływie tego czasu płytkę płukano trzykrotnie, za każdym razem dodając po 0,4 ml buforu płuczającego (Wash Buffer, R&D Systems[®], USA). Do całkowicie opróżnionych i osuszonych studzienek dodawano po 200 µl poliklonalnych przeciwciał przeciw IL-17 połączonych z biotyną (Human IL-17 Conjugate, R&D Systems[®], USA) i inkubowano przez 1 godz. w temperaturze pokojowej we wytrząsarce do mikropłytek przy drganiach horyzontalnych 500±50 rpm.

Potem powtórzono procedurę płukania studzienek płytki filtracyjnej i dodano po 200 µl roztworu Streptavidin Polymer-HRP (R&D Systems[®], USA). Inkubację prowadzono chroniąc płytkę przed dostępem światła przez 30 min. w temperaturze pokojowej we wytrząsarce do mikropłytek . Powtórzono procedurę płukania i dodawano po 200 µl roztworu substratu (Color Reagent A+B, R&D Systems[®], USA). Inkubację prowadzono chroniąc płytkę przed dostępem światła przez 30 min. w temperaturze pokojowej.

Następnie blokowano reakcję enzymatyczną dodając 50 µl roztworu, zatrzymującego reakcję (Stop Solution, R&D Systems[®], USA). Zawartość dołków płytki mieszano i przed upływem 30 minut od zatrzymania procesu wykonywano pomiar wartości gęstości optycznej

(OD) w każdej studziencie, z użyciem spektrofotometru EPOCH (BioTEK[®] Instruments, Inc., USA). Pomiar przebiegał przy długości fali 450 nm i długości fali referencyjnej 540 nm. Wartość stężeń dla poszczególnych prób określano na podstawie krzywej standardowej linearnej logarytmicznej stworzonej przy użyciu oprogramowania komputerowego Gen 5[®].

4.2.2.6 Oznaczanie stężenia Human IL-23

Do określenia stężenia Human IL-23 w surowicy krwi, wykonanego w dwóch powtórzeniach użyto gotowych zestawów Quantikine[®] ELISA Human IL-23 (R&D Systems[®], USA). Numer katalogowy D2300B. Szczegółowy skład zestawów użytych do oznaczeń przedstawiono w tab. 4

Tabela nr 4 Szczegółowy skład zestawu Quantikine[®]. Human IL-23 (D2300B, R&D Systems[®], USA), opis oryginalny.

Odczynnik	Numer katalogowy	Opis
Human IL-23 Microplate	892867	96 well polystyrene microplate (12 strips of 8 wells) coated with a goat polyclonal antibody against the human IL-23 p19 subunit.
Human IL-23 Conjugate	892868	21 ml of a goat polyclonal antibody against the human IL-23 p40 subunit conjugated to horseradish peroxidase with preservatives.
Human IL-23 Standard	892869	Recombinant human IL-23 in a buffered protein solution with preservatives; lyophilized.
Assay Diluent RD1-22	895490	11 ml of a buffered protein solution with preservatives.
Calibrator Diluent RD5-16	895302	21 ml of diluted animal serum with preservatives.
Wash Buffer Concentrate	895003	21 ml/vial of a 25-fold concentrated solution of buffered surfactant with preservative.
Color Reagent A	895000	12 ml of stabilized hydrogen peroxide.

Color Reagent B	895001	12 ml of stabilized chromogen (tetramethylbenzidine).
Stop Solution	895032	6 ml/vial of 2 N sulfuric acid.
Plate Sealers	N / A	Adhesive strips.

Wykonanie procedury rozpoczynano od doprowadzenia wszystkich odczynników i badanych próbek do temperatury pokojowej. Następnie postępowano zgodnie z instrukcją producenta przygotowując :

- bufor płuczący (20 ml stężonego buforu + 480 ml wody dejonizowanej),
- roztwór substratu Color Reagent A+B (R&D Systems[®], USA),
- standardy ludzkiej IL-23: 2 500 pg/ml, 1 250 pg/ml, 625 pg/ml, 313 pg/ml, 156 pg/ml, 78,1 pg/ml, 39 pg/ml, 0 pg/ml Calibrator Diluent RD5-16 (Human IL-23 Standard + Calibrator Diluent RD5-16).

Do wszystkich studzienek płytki mikrofiltracyjnej dodano 100 µl buforu rozcieńczającego próby RD1-22. Następnie do pierwszych 8 studzienek wkroplono 100 µl rozcieńczonych standardów, podczas gdy do pozostałych dodano po 100 µl badanych surowic. Studzienki płytki przykrywano folią dołączoną do zestawu i inkubowano przez 2 godziny w temperaturze pokojowej, przy wykorzystaniu wstrząsarki do mikropłytek przy drganiach horyzontalnych 500±50 rpm.

Po tym czasie płytkę trzykrotnie płukano, każdorazowo dodając po 0,4 ml buforu płuczającego (Wash Buffer, R&D Systems[®], USA). Kolejno do całkowicie opróżnionych i osuszonych studzienek dodano po 200 µl poliklonalnych przeciwciał przeciw IL-23 połączonych z peroksydazą chrzanową (Human IL-23 Conjugate, R&D Systems[®], USA) i inkubowano przez 2 godz. w temperaturze pokojowej, z użyciem wstrząsarki do mikropłytek przy drganiach horyzontalnych 500 ±50 rpm. Następnie procedurę płukania studzienek płytki filtracyjnej powtórzono oraz dodano po 200 µl roztworu substratu (Color Reagent A + B, R&D Systems[®], USA). Podczas inkubacji chroniono płytkę przed dostępem światła przez 30 min. w temperaturze pokojowej. Następnie blokowano reakcję enzymatyczną dodając 50 µl roztworu hamującego reakcję (Stop Solution, R&D Systems[®], USA). Potem przed upływem 30 minut od zatrzymania procesu wykonano pomiar wartości gęstości optycznej (OD) w każdej studziencie z zastosowaniem spektrofotometru EPOCH (BioTEK[®] Instruments, Inc., USA). Pomiar

wykonywano przy długości fali 450 nm i długości fali referencyjnej 540 nm. Wartości stężeń dla poszczególnych prób określano według krzywej standardowej linearnej logarytmicznej utworzonej z zastosowaniem oprogramowania komputerowego Gen 5[®].

4.2.3 Parametry laboratoryjne

Od każdego uczestnika badania pobrano rano na czczo w godzinach 8.00-10.00, w warunkach spoczynku krew do badań biochemicznych. Do analizy wybrano: liczbę czerwonych krwinek (RBC), liczbę białych krwinek (WBC), stężenie hemoglobiny (WBC), stężenie kreatyniny oraz parametrów wątrobowych (AST-aminotransferaza asparaginianowa, ALT-aminotransferaza alaninowa), stężenie glukozy, oraz białka ostrej fazy CRP (C-reactive protein). W surowicy oznaczano także stężenia immunoglobuliny G, M i immunoglobuliny A oraz stężenie białka całkowitego. Powyższe badania były zlecane rutynowo u pacjentów hospitalizowanych w klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu i wykonano je przez Laboratorium Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego nr 1 we Wrocławiu.

4.2.4 Metody analizy statystycznej

Wszystkie uzyskane wyniki badania poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu oprogramowania Statistica v 12.0 (firma Statsoft). Dla wszystkich ocenianych zmiennych typu ciągłego wyznaczono wartości średnie (M-medium), ale także odchylenie standardowa (SD-standard deviation), wartości minimalne i maksymalne, kwartyly i medianę. Normalność rozkładu zmiennych ciągłych zweryfikowano wykorzystując test Kołmogorowa-Smirnowa. Test ten odzwierciedla różnice parametru położenia, ale także różnice kształtów rozkładów (np. różnice odchyłeń standardowych czy skośności). Wykonano wykresy dla tych porównań, gdzie wartość p (p-value tj. probability value, prawdopodobieństwo testowe) było istotnie statystycznie wykorzystując w tym celu testem U Mann'a-Whitney'a.

Ewentualne zależności ilościowe między analizowanymi parametrami sprawdzono wykorzystując test rankg Spearman'a, czyli miarę monotonicznej zależności statystycznej między zmiennymi losowymi.

Analizę statystyczną przeprowadzono na poziomie ufności $\alpha=0,05$. Przyjęto, że istotnie statystycznie wyniki to te dla których prawdopodobieństwo popełnienia błędu pierwszego rodzaju, polegającego na odrzuceniu hipotezy zerowej, która była prawdziwa, było mniejsze niż 0,05.

5. WYNIKI

5.1. Charakterystyka ogólna grupy badanej i kontrolnej

Badaniem zostało objętych łącznie 88 osób. Niezbędnym warunkiem włączenia do badania było ukończenie 18 lat. Grupę badaną stanowiło 48 niespokrewnionych pacjentów z piodermią zgorzelinową, w tym 31 kobiet (64,6%) i 17 mężczyzn (35,4%). Średnia wieku tych pacjentów wynosiła $51,3 \pm 16,9$ lat (przedział 19-85 lat). Grupę kontrolną stanowiło 40 osób nie chorujących na piodermię zgorzelinową ani na inne zapalne choroby skóry – 21 kobiet (52,5%) i 19 mężczyzn (47,5%). Wiek grupy badanej wahał się w przedziale 24-84 lat, a średnia wieku wyniosła w grupie badanej $48,1 \pm 13,0$ lat.

Grupa badana i kontrola nie różniły się statystycznie pod względem płci i wieku (tabela 5 i 6).

Tabela 5. Charakterystyka porównawcza płci badanej grupy i grupy kontrolnej.

	zdrowi	chorzy
mężczyzna	19	17
% kolumny	47,5%	35,4%
kobieta	21	31
% kolumny	52,5%	64,6
Ogół	40	48

P=0,35 (test Chi2 z korektą Yatesa)

Tabela 6. Charakterystyka wieku grupy badanej i kontrolnej.

Wiek:

	wiek Średnie	wiek Odch.std	wiek Minimum	wiek Maksimum	wiek Q25	wiek Mediana	wiek Q75
Zdrowi	48,1	13,0	24,0	84,0	40,5	48,0	56,5
Chorzy	51,3	16,9	19,0	85,0	40,0	51,5	62,0

P=0,34 (Test T Studenta)

Q25 – Q75 oznacza kwartył 25% - kwartył 75%

5.2. Charakterystyka kliniczna grupy badanej

Rozległość i liczba owrzodzeń u pacjentów w grupie badanej różniła się. 20 pacjentów miało pojedyncze owrzodzenie (41,7%), 16 pacjentów miało dwa owrzodzenia (33,3%), a 12 pacjentów miało trzy i więcej owrzodzeń (25%) (tabela 7).

Biorąc pod uwagę lokalizację zmian, na kończynach dolnych było zlokalizowane 41 owrzodzeń, 8 na tułowiu, 5 na kończynach górnych, a 1 na głowie i szyi. Oceniono także łączną powierzchnię owrzodzeń – średnia łączna powierzchnia owrzodzeń wynosiła $45,68 \text{ cm}^2 \pm 54,93$ (zakres $0,78 - 243,5 \text{ cm}^2$, mediana $19,6 \text{ cm}^2$) (tabela 8).

Tabela 7. Liczba owrzodzeń:

Pojedyncze n= 20 (41,7%)

Dwa n=16 (33,3%)

Trzy i więcej n=12 (25%)

	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl.	Górny Kwartyl.	Odch.std
Liczba owrzodzeń	2,15	2,0	1,0	8,0	1,0	2,5	1,6

Tabela 8. Powierzchnia owrzodzeń

	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny Kwartyl.	Górny Kwartyl.	Odch.std
łączna powierzchnia owrzodzenia w cm kw.	45,68	19,6	0,78	243,5	8,21	72,35	54,93

Ponadto część pacjentów z grupy badanej chorowało na schorzenia współistniejące: 6 pacjentów miało choroby zapalne jelit w wywiadzie, 4 choroby zapalne stawów, 2 współistniejące kolagenozy.

W grupie badanej patergia była obecna u 18 chorych, pozostałych 30 nie zgłaszało objawu patergii.

Analizując nałóg palenia papierosów 20 pacjentów zgłaszało aktywny nałóg palenia (co najmniej pół paczki na dobę lub więcej, przez co najmniej ostatni rok lub dłużej), pozostałych 28 pacjentów nie paliło wcale.

Wykonano także analizę parametrów biochemicznych i morfologicznych u pacjentów w grupie badanej – łączne zestawienie zamieszczono w tabeli 9.

Tabela 9. Parametry laboratoryjne u pacjentów z piodermią zgorzelinową.

	Średnia	Mediana	Minimum	Maksimum	Kwartyl Dolny	Kwartyl Górny	Odch.std
CRP mg/l	14,85	8,65	0,30	64,40	2,45	21,30	16,67
kreatynina mg/dL	0,85	0,79	0,53	2,07	0,70	0,95	0,29
RBC10*6 /uL	5,15	4,25	3,00	51,00	3,84	4,53	6,78
WBC 10*3 /uL	9,24	7,80	3,90	19,10	7,05	11,45	3,56
HGB g/dL	12,07	12,25	8,40	15,10	11,80	12,90	1,37
glukoza mg/dL	90,92	88,50	62,00	155,00	85,00	98,00	15,01

ALAT U/L	21,54	17,00	6,00	72,00	12,50	24,50	14,48
ASPAT U/L	19,96	18,00	8,00	80,00	14,50	21,50	10,75
IgG g/L N: 8-17	11,78	11,05	6,10	24,90	8,75	13,80	3,90
IgM g/L N: 0,5-3,2	1,32	1,18	0,28	3,15	0,83	1,85	0,67
IgA g/L N:1-4,9	3,38	3,23	1,20	6,21	2,51	3,87	1,08
białko całkowite g/dL 6,4-8,3	6,71	6,65	5,50	7,90	6,30	7,10	0,61

5.3 Stężenia badanych interleukin w surowicy chorych z piodermią zgorzelinową oraz w grupie kontrolnej, a także ich korelacje z innymi badanymi parametrami

5.3.1. Interleukina 6

Stężenie Il-6 zbadano w surowicy krwi 48 pacjentów z piodermią zgorzelinową i 40 pacjentów w grupie kontrolnej. Wyniki przedstawiono w tabeli 10 i 11.

Tabela 10. Stężenie Il-6 w surowicy krwi grupy badanej.

Lp.	Stężenie Il-6 x rozcieńczenie [pg/ml]
1.	17,46
2.	12,94
3.	9,182
4.	5,85
5.	8,323
6.	1,929
7.	2,999
8.	1,242
9.	2,089
10.	15,02
11.	2,29
12.	4,566
13.	16,08
14.	28,2
15.	5,622
16.	3,445
17.	2,314
18.	6,852
19.	11,48
20.	1,055
21.	3,668
22.	12,08
23.	9,343
24.	5,62
25.	3,433
26.	8,306
27.	31,54

28.	20,05
29.	1,154
30.	3,359
31.	17,86
32.	13,73
33.	12,31
34.	18,45
35.	7,518
36.	6,833
37.	14,56
38.	1,691
39.	3,347
40.	25,02
41.	13,258
42.	3,411
43.	32,38
44.	17,74
45.	12,59
46.	6,727
47.	1,709
48.	16,5

Tabela 11. Stężenie Il-6 w surowicy krwi grupy kontrolnej.

Lp.	Stężenie Il-6 x rozcieńczenie [pg/ml]
1.	1,21
2.	1,309
3.	0,729
4.	0,72
5.	1,155
6.	1,707
7.	1,337
8.	2,495
9.	0,698
10.	1,552
11.	0,902
12.	0,879
13.	0,61
14.	0,581
15.	0,821
16.	0,745
17.	1,24
18.	0,934
19.	0,849
20.	1,151
21.	1,08

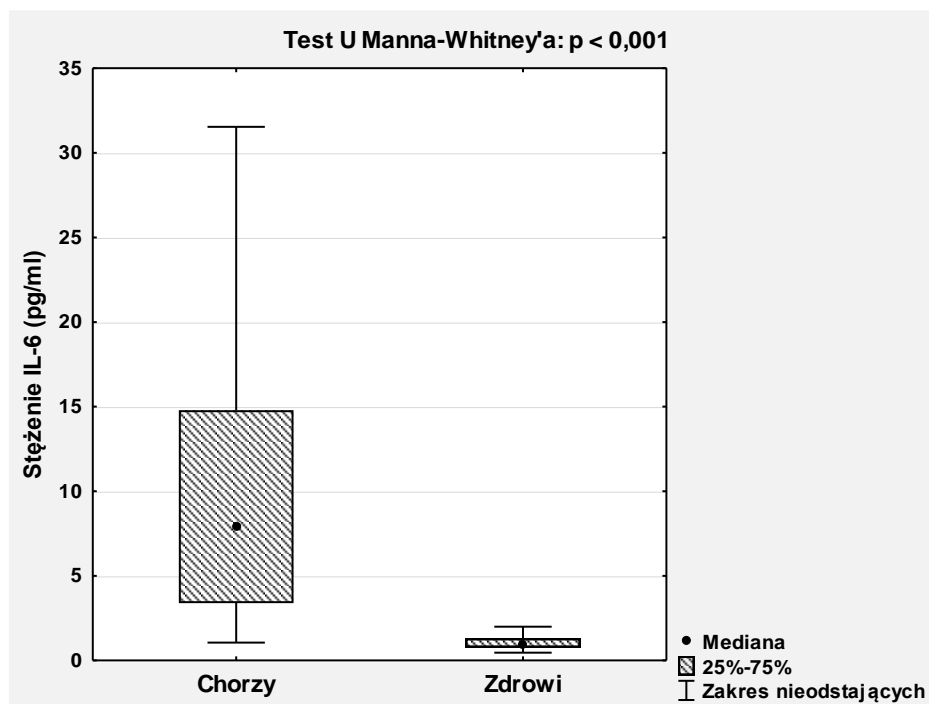
22.	1,273
23.	1,996
24.	0,81
25.	0,717
26.	1,354
27.	1,88
28.	1,286
29.	1,14
30.	1,029
31.	0,848
32.	0,933
33.	0,612
34.	3,092
35.	0,459
36.	0,801
37.	0,915
38.	1,137
39.	0,502
40.	1,61

Średnie stężenie IL-6 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $10,1 \pm 8,13$ pg/ml (zakres 1,05 -32,38pg/ml ; mediana 7,91 pg/ml). W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie IL-6 wynosiło $1,13$ pg/ml \pm 0,54 pg/ml (zakres 0,46-3,09 pg/ml mediana 0,98 pg/ml). Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych jest znamienna statystycznie ($p < 0,001$) (tabela 12).

Tabela 12. Porównanie stężenia IL-6 w surowicy krwi osób chorych na piodermię zgorzelinową z grupą kontrolną.

IL-6	stężenie IL-6 Średnie	stężenie IL-6 concen. x rozcień. Odch.std	stężenie IL-6 concen. x rozcień. Minimu m	stężenie IL-6 concen. x rozcień. Maksim um	stężenie IL-6 concen. x rozcień. Q25	stężenie IL-6 concen. x rozcień. Mediana	stężenie IL-6 concen. x rozcień. Q75
Zdrowi	1,13	0,54	0,46	3,09	0,77	0,98	1,3
Chorzy	10,1	8,13	1,05	32,38	3,38	7,91	14,79

Rycina 1. Graficzne przedstawienie porównania stężenia IL-6 w surowicy osób chorych na piodermię zgorzelinową i u osób zdrowych .



U kobiet chorujących na piodermię zgorzelinową średnie stężenie IL-6 w surowicy wynosiło 6,48 pg/ml \pm 5,09 pg/ml (zakres 1,05-18,45 pg/ml; mediana 5,62 pg/ml), natomiast u mężczyzn chorych na piodermię zgorzelinową średnie stężenie IL-6 było wyższe i wyniosło 16,6 \pm 8,67 pg/ml (zakres 3,36 – 32,38 ; mediana 16,08 pg/ml). Wykazano istotnie statystycznie różnice na poziomie stężenia IL-6 pomiędzy grupami osób płci żeńskiej i męskiej ($p < 0,001$) (tabela 13).

Tabela 13. Porównanie stężenia IL-6 w surowicy krwi kobiet i mężczyzn chorujących na piodermię zgorzelinową.

	IL-6 Średnie	IL-6 Ważnych	IL-6 Odch.std	IL-6 Minimum	IL-6 Maksimum	IL-6 Q25	IL-6 Mediana	IL-6 Q75
mężczyzna	16,6	17	8,67	3,36	32,38	12,31	16,08	20,05
kobieta	6,48	31	5,09	1,05	18,45	2,29	5,62	9,18

P dla IL 6: $p < 0,001$

Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między wiekiem pacjentów grupy badanej chorych na piodermię zgorzelinową i stężeniem IL-6 w surowicy krwi pacjentów ($R=0,25$, $p=0,09$) (tabela 14).

Tabela 14. Korelacja między stężeniem IL-6 w surowicy chorych na PG a wiekiem pacjentów.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana (Robocze2 chorzy) BD usuwane parami Oznaczone wsp. korelacji są istotne z $p < 0,05000$		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-6 & wiek	48	0,25	0,09

Porównując zależność między liczbą owrzodzeń u pacjent i stężeniem IL-6 w surowicy nie wykazano istotnej korelacji statystycznej ($R=0,13$, $p=0,38$)(tabela 15).

Tabela 15. Korelacja między stężeniem IL-6 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową a łączną liczbą owrzodzeń u pacjenta.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-6 & Liczba owrzodzeń	48	0,13	0,38

Ponadto nie wykazano istotnie statystycznie korelacji między IL-6 a łączną powierzchnią owrzodzeń u chorych na piodermię zgorzelinową ($R=-0,03$, $p=0,86$)(tabela 16).

Tabela 16. Korelacja między stężeniem IL-6 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową a łączną powierzchnią owrzodzenia.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-6 & łączna powierzchnia owrzodzenia w cm kw.	48	-0,03	0,86

Biorąc pod uwagę lokalizację owrzodzeń, w przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach dolnych średnie stężenie IL-6 wynosiło $11,12 \pm 8,317605$ pg/ml (zakres 1,05-32,38 pg/ml; mediana 9,34 pg/ml) i było wyższe niż w przypadku owrzodzeń w innej lokalizacji i różnica ta była istotna statystycznie ($p=0,02$).

W przypadku owrzodzeń na tułowie średnie stężenie IL-6 wynosiło $2,87050$ pg/ml $\pm 1,6$ (zakres 1,05- 5,62; mediana 3,39 pg/ml) i było niższe niż stężenie IL-6 w przypadku owrzodzeń w innych lokalizacjach i różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,001$).

W przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach górnych średnie stężenie IL-6 wynosiło $9,05$ pg/ml $\pm 10,92$ (zakres 1,15 – 28,2; mediana 5,62 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p=0,52$).

W przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na głowie i szyi średnie stężenie IL-6 wynosiło 3,0 pg/ml \pm 0 (zakres 3,0-3,0 ;mediana 3,0 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p=1,0$). Podsumowując, stwierdzono istotnie statystycznie różnice w przypadku stężenia IL-6 a lokalizacją na kończynach dolnych i tułowiu, w pozostałych lokalizacjach (głowa i szyja, kończyny górne) wyniki nie wykazały istotnej statystycznie korelacji stężenia IL-6 z lokalizacją (Tabela 17).

Tabela 17. Porównanie stężeń IL-6 w surowicy krwi chorych na PG z owrzodzeniami w różnych lokalizacjach.

	IL-6 Średnie	IL-6 Odch. std	IL-6 Minimum	IL-6 Maksimum	IL-6 Q25	IL-6 Mediana	IL-6 Q75	P
Kończyny dolne	11,12	8,317605	1,05	32,38	3,44	9,34	16,08	0,02
Tułów	2,87050	1,6	1,05	5,62	1,2	3,39	3,56	<0,001
Kończyny górne	9,05	10,92	1,15	28,2	3,44	5,62	6,83	0,52
Głowa/szyja	3,0	0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	1,0

Analizując zjawisko patergii w korelacji ze stężeniem IL-6, w przypadku pacjentów bez zjawiska patergii średnie stężenie IL-6 wynosiło 9,75 pg/ml \pm 8,25 (zakres 1,06-32,38 pg/ml; mediana 7,95 pg/ml). U pacjentów zgłaszających zjawisko patergii średnie stężenie IL-6 wynosiło 10,59 \pm 8,13 pg/ml (zakres 1,24-31,54 pg/ml; mediana 7,91 pg/ml). Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między stężeniem IL-6 w surowicy krwi chorych na PG z współistniejącym zjawiskiem patergii i bez niego ($p=0,57$) (tabela 18).

Tabela 18. Porównanie stężenia IL-6 w surowicy krwi chorych na PG w zależności od występowania zjawiska patergii.

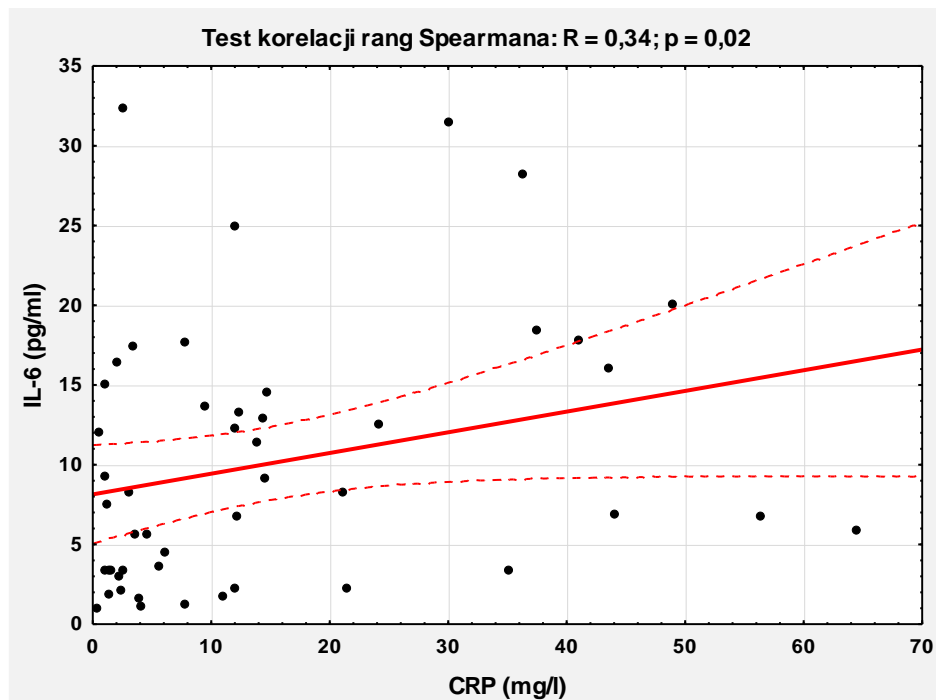
	IL-6 Średnie	IL-6 Odch.std	IL-6 Minimum	IL-6 Maksimum	IL-6 Q25	IL-6 Mediana	IL-6 Q75	P
Patergia nieobecna	9,75	8,25	1,06	32,38	3,41	7,95	13,26	0,57
Patergia obecna	10,59	8,13	1,24	31,54	3,36	7,91	16,50	

Wykonano także analizę korelacji stężenia IL-6 w surowicy krwi chorych ze stężeniem różnych parametrów biochemicznych. Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między stężeniem IL-6 a stężeniem: kreatyniny, RBC, WBC , HGB, stężeniem glukozy, ALAT, IgG, IgM, IgA i białka całkowitego (wartości R i wartości p zawarto w tabeli 19). Wykazano natomiast istotnie statystyczną zależność między stężeniem IL-6 a stężeniem białka C-reaktywnego- CRP ($R=0,34, p=0,02$) (Rycina 2). Wykazano także istotną statystycznie zależność między stężeniem IL-6 w surowicy krwi pacjentów a wartością ASPAT ($R=0,31, p=0,03$) (Rycina 3).

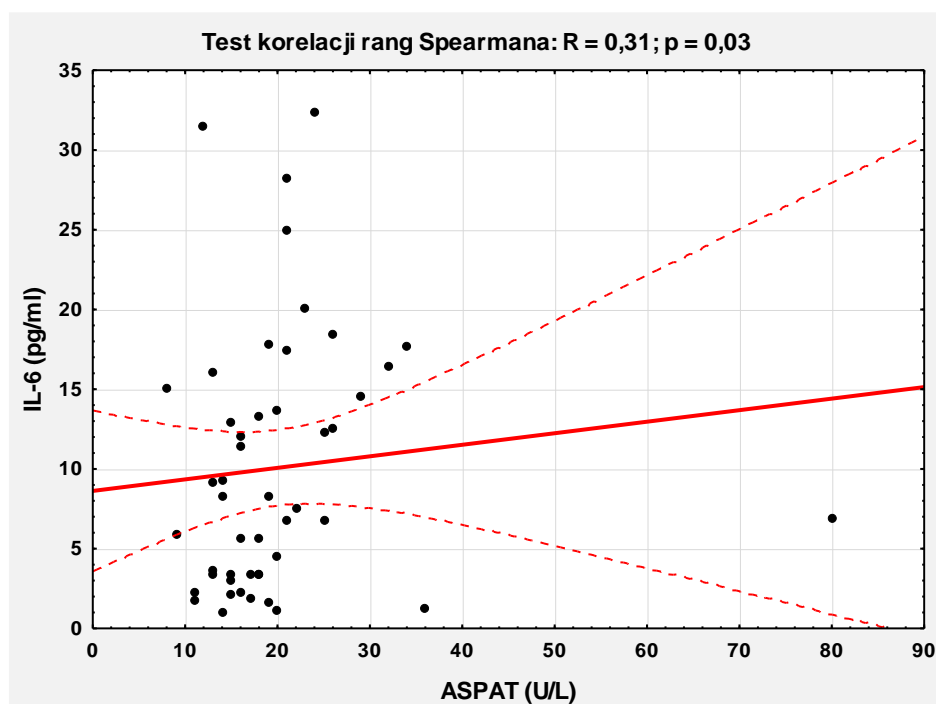
Tabela 19. Korelacja między stężeniem Il-6 w surowicy krwi pacjentów a stężeniem parametrów biochemicznych.

	R Spearman	P
CRP mg/l & IL-6	0,34	0,02
kreatynina mg/dL & IL-6	0,25	0,08
RBC10*6 /uL & IL-6	-0,2	0,17
WBC 10*3 /uL & IL-6	0,16	0,28
HGB g/dL & IL-6	-0,05	0,72
glukoza mg/dL & IL-6	-0,03	0,81
ALAT U/L & IL-6	0,11	0,47
ASPAT U/L & IL-6	0,31	0,03
IgG g/L N: 8-17 & IL-6	0,04	0,764637
IgM g/L N: 0,5-3,2 & IL-6	-0,28	0,052709
IgA g/L N:1-4,9 & IL-6	0,2	0,172892
białko całkowite g/dL 6,4-8,3 & IL-6	0,01	0,503891

Rycina 2. Graficzne przedstawienie korelacji między stężeniem Il-6 a stężeniem CRP w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową.



Rycina 3. Graficzne przedstawienie korelacji między stężeniem Il-6 a stężeniem ASPAT w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową.



Analizie poddano także stężenie Il-6 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną jelit oraz bez chorób zapalnych jelit w wywiadzie. U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała choroba zapalna jelit średnie stężenie Il-6 wynosiło $6,27 \pm 5,85$ pg/ml (zakres 1,69-17,46 pg/ml; mediana 4,76 pg/ml).

U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej choroby zapalnej jelit w wywiadzie średnie stężenie Il-6 wynosiło $10,61 \text{ pg/ml} \pm 8,31$ (zakres 1,06-32,38 pg/ml; mediana 8,75 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem Il-6 w grupie pacjentów z PG i chorobą zapalną jelit a pacjentami z PG bez współistniejącej choroby zapalnej jelit ($p=0,26$) (Tabela 20).

Tabela 20. Porównanie stężenia Il-6 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną jelit i bez takiego współistnienia.

	IL-6 Średnie	IL-6 Odch.std	IL-6 Minimum	IL-6 Maksimum	IL-6 Q25	IL-6 Mediana	IL-6 Q75	p
Nie	10,61	8,31	1,06	32,38	3,41	8,75	15,02	0,26
Tak	6,27	5,85	1,69	17,46	2,09	4,76	6,85	

Poddano analizie stężenie Il-6 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną stawów oraz bez chorób zapalnych stawów w wywiadzie.

U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała choroba zapalna stawów średnie stężenie Il-6 wynosiło $4,55 \pm 2,18$ pg/ml (zakres 2,09-6,83 pg/ml ; mediana

4,63 pg/ml). U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej choroby zapalnej stawów w wywiadzie średnie stężenie IL-6 wynosiło 10,57 pg/ml±8,29 (zakres 1,06-32,38 pg/ml; mediana 8,75 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-6 w grupie pacjentów z PG i chorobą zapalną stawów a grupą pacjentów z PG bez współistniejącej choroby zapalnej stawów (p=0,19) (Tabela 21).

Tabela 21. Porównanie stężenia IL-6 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną stawów i bez takiego współistnienia

	IL-6 Średnie	IL-6 Odch.std	IL-6 Minimum	IL-6 Maksimum	IL-6 Q25	IL-6 Mediana	IL-6 Q75	P
Nie	10,57	8,29	1,06	32,38	3,40	8,75	15,55	0,19
Tak	4,55	2,18	2,09	6,83	2,75	4,63	6,34	

Poddano analizie stężenie IL-6 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą kolagenozą oraz bez kolagenoz w wywiadzie. U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała kolagenoza średnie stężenie IL-6 wynosiło 8,66± 9,0 pg/ml (zakres 2,29-15,02 pg/ml ; mediana 8,66 pg/ml). U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej kolagenozy w wywiadzie średnie stężenie IL-6 wynosiło 10,13 pg/ml± 8,19 (zakres 1,06-32,38 pg/ml; mediana 7,91 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-6 w grupie pacjentów z PG i współistniejącymi kolagenozami a grupą pacjentów z PG bez współistniejącej kolagenozy (p=0,86) (Tabela 22).

Tabela 22. Porównanie stężenia IL-6 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą kolagenozą i bez takiego współistnienia.

	IL-6 Średnie	IL-6 Odch.std	IL-6 Minimum	IL-6 Maksimum	IL-6 Q25	IL-6 Mediana	IL-6 Q75	P
Nie	10,13	8,19	1,06	32,38	3,41	7,91	14,56	0,86
Tak	8,66	9,00	2,29	15,02	2,29	8,66	15,02	

W grupie chorych niepalących z piodermią zgorzelinową średnie stężenie IL-6 wynosiło 10,63 ±8,90 pg/ml (zakres 1,06-32,38 pg/ml; mediana 7,58 pg/ml). W grupie badanych chorych na piodermię zgorzelinową, palących co najmniej pół paczki papierosów na dobę lub więcej (przez co najmniej rok) średnie stężenie IL-6 wynosiło 9,27 ±7,04 pg/ml (1,24-28,20 pg/ml; mediana 7,92 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniu IL-6 w surowicy krwi pacjentów między grupą palących i niepalących (p=0,83) (Tabela 23).

Tabela 23. Porównanie stężeń IL-6 w grupie badanych chorych na piodermię zgorzelinową niepalących i grupie chorych z piodermią zgorzelinową palących co najmniej pół paczki/dobę przez ostatni rok lub więcej.

	IL-6 Średnie	IL-6 Odch.std	IL-6 Minimum	IL-6 Maksimum	IL-6 Q25	IL-6 Mediana	IL-6 Q75
Nie	10,63	8,90	1,06	32,38	3,38	7,58	15,76
Tak	9,27	7,04	1,24	28,20	3,40	7,92	13,10

5.3.2. Interleukina 8

Stężenie IL-8 zbadano w surowicy krwi 48 pacjentów z piodermią zgorzelinową i u 40 pacjentów w grupie kontrolnej. Wyniki przedstawiono w tabeli 24 i 25.

Tabela 24. Stężenie IL-8 w surowicy krwi grupy badanej.

Lp.	Stężenie IL-8 x rozcieńczenie [pg/ml]
1.	46,384
2.	50,125
3.	58,909
4.	59,296
5.	34,971
6.	19,744
7.	1,292
8.	0,917
9.	12,007
10.	16,139
11.	18,188
12.	27,008
13.	17,288
14.	56,54
15.	9,773
16.	29,901
17.	16,799
18.	59,137
19.	150,68
20.	129,58
21.	74,699
22.	148,4
23.	36,015
24.	38,574
25.	14,166
26.	47,531
27.	65,709
28.	136,23
29.	21,059
30.	6,843

31.	58,758
32.	57,516
33.	58,669
34.	35,489
35.	127,934
36.	48,663
37.	52,017
38.	24,531
39.	159,34
40.	12,956
41.	46,473
42.	155,56
43.	24,756
44.	64,055
45.	52,455
46.	65,679
47.	36,506
48.	24,693

Tabela 25. Stężenie Il-8 w surowicy krwi grupy kontrolnej.

Lp.	Stężenie Il-8 x rozcieńczenie [pg/ml]
1.	23,945
2.	18,376
3.	16,939
4.	13,352
5.	18,913
6.	12,418
7.	9,544
8.	23,588
9.	27,167
10.	24,472
11.	13,258
12.	14,18
13.	4,371
14.	4,095
15.	8,743
16.	8,876
17.	11,595
18.	20,077
19.	24,943
20.	12,218
21.	23,569
22.	9,955
23.	9,429
24.	13,189

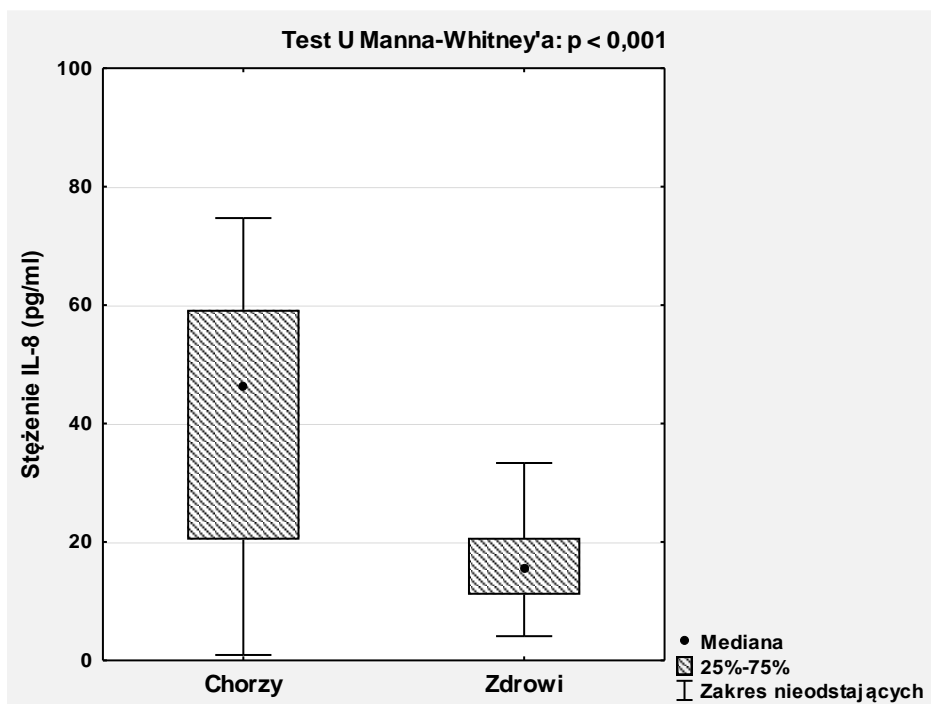
25.	19,744
26.	10,594
27.	33,338
28.	21,354
29.	16,775
30.	18,096
31.	17,162
32.	12,198
33.	13,313
34.	19,048
35.	4,698
36.	22,256
37.	49,188
38.	19,082
39.	4,3
40.	13,204

Średnie stężenie IL-8 w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $52,29 \pm 42,93$ pg/ml (zakres 0,92-159,34 pg/ml ; mediana 46,43 pg/ml). W surowicy krwi osób zdrowych z grupy kontrolnej średnie stężenie IL-8 wynosiło $16,54 \pm 8,59$ pg/ml (zakres 4,09-49,19 pg/ml; mediana 15,48 pg/ml)(Tabela 26, Rycina 4). Różnica w wartości stężenia IL-8 w grupie chorych i zdrowych była znamienna statystycznie ($p < 0,001$).

Tabela 26. Porównanie stężenia IL-8 w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową i w surowicy krwi osób zdrowych z grupy kontrolnej.

IL-8	stężenie IL-8 conc.x rozc. Średnie	stężenie IL-8 conc.x rozc. Odch.std	stężenie IL-8 conc.x rozc. Minimum	stężenie IL-8 conc.x rozc. Maksimum	stężenie IL-8 conc.x rozc. Q25	stężenie IL-8 conc.x rozc. Mediana	stężenie IL-8 conc.x rozc. Q75
Zdrowi	16,54	8,59	4,09	49,19	11,09	15,48	20,72
Chorzy	52,29	42,93	0,92	159,34	20,4	46,43	59,22

Rycina 4. Graficzne przedstawienie porównania stężenia IL-8 w surowicy osób chorych na piodermię zgorzelinową i zdrowych.



U kobiet chorujących na piodermię zgorzelinową średnie stężenie IL-8 w surowicy wynosiło $48,34 \text{ pg/ml} \pm 43,38 \text{ pg/ml}$ (zakres $0,92\text{-}159,34 \text{ pg/ml}$; mediana $36,01 \text{ pg/ml}$), natomiast u mężczyzn chorujących na piodermię zgorzelinową średnie stężenie IL-8 wyniosło $59,48 \pm 42,41 \text{ pg/ml}$ (zakres $6,84\text{-}150,68$; mediana $52,45 \text{ pg/ml}$). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic na poziomie stężenia IL-8 pomiędzy grupami osób płci żeńskiej i męskiej ($p=0,27$) (tabela 27).

Tabela 27. Porównanie stężenia IL-8 w surowicy krwi kobiet i mężczyzn chorujących na piodermię zgorzelinową.

	IL-8 Średnie	IL-8 Ważnych	IL-8 Odch.std	IL-8 Minimum	IL-8 Maksimum	IL-8 Q25	IL-8 Mediana	IL-8 Q75
mężczyzna	59,48	17	42,41	6,84	150,68	24,76	52,45	65,7
kobieta	48,34	31	43,38	0,92	159,34	18,19	36,01	59,14

P dla IL-8: $p=0,27$

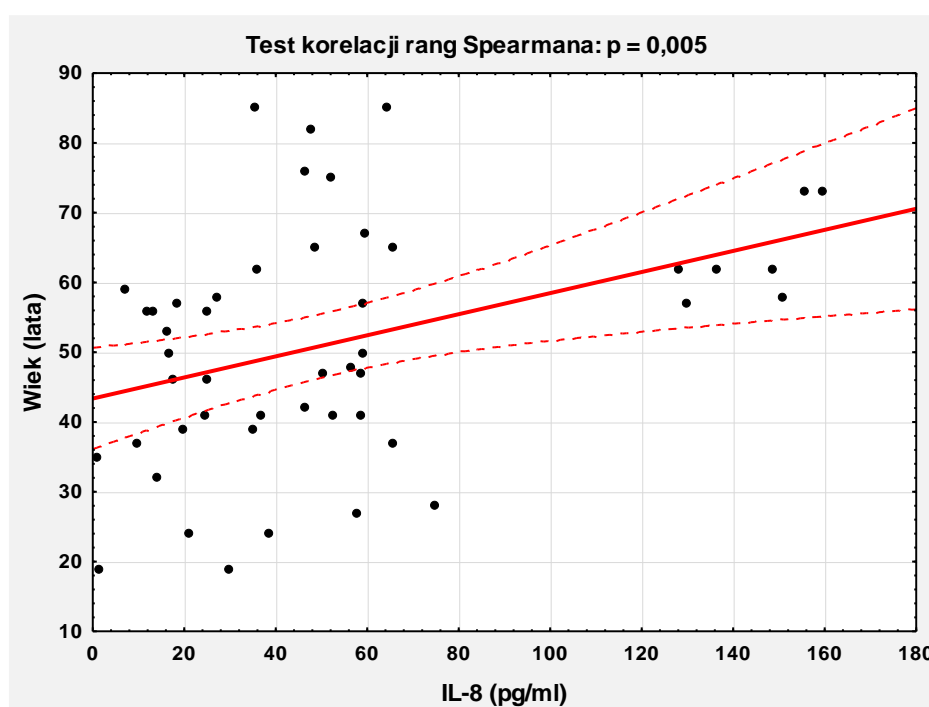
Wykazano istotną statystycznie korelację między wiekiem pacjentów a stężeniem IL-8 w surowicy krwi pacjentów chorych na piodermię zgorzelinową ($R=0,4$, $p=0,005$) (tabela 28, Rycina 5).

Tabela 28. Korelacja między stężeniem IL-8 w surowicy chorych na PG i wiekiem pacjentów.

Wiek (test korelacji rang Spearmana)

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana (Robocze2 choroby) BD usuwane parami Oznaczone wsp. korelacji są istotne z $p < 0,05000$		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-8 & wiek	48	0,4	0,005

Rycina 5. Graficzne przedstawienie korelacji pomiędzy stężeniem IL-8 a wiekiem pacjentów chorych na piodermię zgorzelinową.



Porównując zależność między liczbą owrzodzeń u pacjenta a stężeniem IL-8 w surowicy nie wykazano istotnej korelacji statystycznej ($R = -0,001$, $p = 0,99$) (tabela 29).

Tabela 29. Korelacja między stężeniem IL-8 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową a łączną liczbą owrzodzeń u pacjenta.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-8 & Liczba owrzodzeń	48	-0,001	0,99

Ponadto nie wykazano istotnie statystycznie korelacji między IL-8 a łączną powierzchnią owrzodzeń u chorych na piodermię zgorzelinową ($R = -0,18$, $p = 0,21$) (tabela 30).

Tabela 30. Korelacja między stężeniem IL-8 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową a łączną powierzchnią owrzodzenia.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N Ważnych	R Spearman	P
IL-8 & łączna powierzchnia owrzodzenia w cm kw.	48	-0,18	0,21

Analizując lokalizację owrzodzeń w przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach dolnych średnie stężenie IL-8 wynosiło 52,49±41,66 pg/ml (zakres 0,92- 155,56 pg/ml; mediana 46,47 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach (p=0,77).

W przypadku owrzodzeń na tułowie średnie stężenie IL-8 wynosiło 58,53 ±57,79 pg/ml (zakres 0,92- 159,34 pg/ml; mediana 34,24 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach (p<0,97).

W przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach górnych średnie stężenie IL-8 wynosiło 38,95pg/ml ±14,19 (zakres 21,06 – 56,54; mediana 38,57 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach (p=0,74).

W przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na głowie i szyi średnie stężenie IL-8 wynosiło 1,29 pg/ml ±0 (zakres 1,29-1,29; mediana 1,29 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach (p=1,0). Podsumowując nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w przypadku stężenia IL-8 w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową a poszczególnymi lokalizacjami: na kończynach dolnych i tułowie, głowie i szyi, kończynach górnych (Tabela 31).

Tabela 31. Porównanie stężeń IL-8 w surowicy krwi chorych na PG, z owrzodzeniami w różnych lokalizacjach.

	IL-8 Średnie	IL-8 Odch.std	IL-8 Minimum	IL-8 Maksimum	IL-8 Q25	IL-8 Mediana	IL-8 Q75	P
Kończyny dolne	52,49	41,66	0,92	155,56	24,53	46,47	59,14	0,77
Tułów	58,53	57,79	0,92	159,34	17,61	34,24	102,14	0,97
Kończyny górne	38,95	14,19	21,06	56,54	29,9	38,57	48,66	0,74
Głowa/szyja	1,29	0,0	1,29	1,29	1,29	1,29	1,29	1,0

Analizując zjawisko patergii w korelacji ze stężeniem IL-8, w przypadku pacjentów bez zjawiska patergii średnie stężenie IL-8 wynosiło 53,39 pg/ml ±41,11 (zakres 1,29-155,56 pg/ml; mediana 46,43 pg/ml). U pacjentów zgłaszających zjawisko patergii średnie stężenie

IL-8 wynosiło $50,45 \pm 46,97$ pg/ml (zakres 0,92-159,34 pg/ml; mediana 41,25 pg/ml). Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między stężeniem IL-8 w surowicy krwi chorych na PG z patergią i bez niej ($p=0,53$) (tabela 32).

Tabela 32. Porównanie stężenia IL-8 w surowicy krwi chorych na piodermie zgorzelinową w zależności od występowania zjawiska patergii.

	IL-8 Średnie	IL-8 Odch.std	IL-8 Minimum	IL-8 Maksimum	IL-8 Q25	IL-8 Mediana	IL-8 Q75	p
Patergia nieobecna	53,39	41,11	1,29	155,56	24,76	46,43	58,91	0,53
Patergia obecna	50,45	46,97	0,92	159,34	16,14	41,25	64,06	

Wykonano także analizę korelacji stężenia IL-8 w surowicy krwi chorych ze stężeniem różnych parametrów biochemicznych. Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między stężeniem IL-8 a stężeniem oznaczanych parametrów: kreatyniny, RBC, WBC, HGB, stężeniem glukozy, ALAT, ASPAT, CRP, IgG, IgM, IgA i białka całkowitego (wartości R i wartości p zawarto w tabeli 33).

Tabela 33. Korelacja między stężeniem IL-8 we krwi pacjentów a stężeniem oznaczanych parametrów biochemicznych i morfologicznych.

	R Spearman	p
CRP mg/l & IL-8	0,09	0,54
kreatynina mg/dL & IL-8	0,02	0,88
RBC10*6 /uL & IL-8	0,04	0,76
WBC 10*3 /uL & IL-8	0,14	0,34
HGB g/dL & IL-8	0,17	0,24
glukoza mg/dL & IL-8	-0,1	0,52
ALAT U/L & IL-8	-0,0	0,88
ASPAT U/L & IL-8	0,03	0,86
IgG g/L N: 8-17 & IL-8	-0,03	0,84
IgM g/L N: 0,5-3,2 & IL-8	-0,005	0,97
IgA g/L N:1-4,9 & IL-8	0,04	0,8
białko całkowite g/dL 6,4-8,3 & IL-8	0,04	0,78

Poddano analizie także stężenie IL-8 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermie zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną jelit oraz bez chorób zapalnych jelit w wywiadzie.

U chorych na piodermie zgorzelinową, u których współistniała choroba zapalna jelit średnie stężenie IL-8 wynosiło $46,01 \pm 23,62$ pg/ml (zakres 12,01-74,70 pg/ml; mediana 52,76 pg/ml). U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej choroby zapalnej jelit w

wywiadzie średnie stężenie IL-8 wynosiło 53,19 pg/ml±45,14 (zakres 0,92-159,32 pg/ml; mediana 42,52 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-8 w grupie pacjentów z PG i chorobą zapalną jelit a stężeniem w grupie pacjentów z PG bez współistniejącej choroby zapalnej jelit (p=0,77) (Tabela 34).

Tabela 34. Porównanie stężenia IL-8 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną jelit i bez takiego współistnienia.

	IL-8 Średnie	IL-8 Odch.std	IL-8 Minimum	IL-8 Maksimum	IL-8 Q25	IL-8 Mediana	IL-8 Q75	p
Nie	53,19	45,14	0,92	159,34	19,74	42,52	58,91	0,77
Tak	46,01	23,62	12,01	74,70	24,53	52,76	59,30	

Poddano analizie stężenie IL-8 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną stawów oraz bez chorób zapalnych stawów w wywiadzie.

U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała choroba zapalna stawów średnie stężenie IL-8 wynosiło 68,88±61,23 pg/ml (zakres 12,01-155,56 pg/ml; mediana 53,98 pg/ml). U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej choroby zapalnej stawów w wywiadzie średnie stężenie IL-8 wynosiło 50,78 pg/ml±41,53 (zakres 0,92-159,34 pg/ml; mediana 42,48 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-8 w grupie pacjentów z PG i chorobą zapalną stawów a pacjentów z PG bez współistniejącej choroby zapalnej stawów (p=0,53) (Tabela 35).

Tabela 35. Porównanie stężenia IL-8 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną stawów i bez takiego współistnienia.

	IL-8 Średnie	IL-8 Odch.std	IL-8 Minimum	IL-8 Maksimum	IL-8 Q25	IL-8 Mediana	IL-8 Q75	p
Nie	50,78	41,53	0,92	159,34	20,40	42,48	59,02	0,53
Tak	68,88	61,23	12,01	155,56	30,34	53,98	107,43	

Poddano analizie stężenie IL-8 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą kolagenozą oraz bez kolagenoz w wywiadzie. U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała kolagenoza średnie stężenie IL-8 wynosiło 17,16 ± 1,45 pg/ml (zakres 16,14-18,19 pg/ml; mediana 17,16 pg/ml).

U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej kolagenozy w wywiadzie średnie stężenie IL-8 wynosiło 53,82 pg/ml± 43,21 (zakres 0,92-159,34 pg/ml; mediana 47,00 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-8 w grupie pacjentów z PG i kolagenozami współistniejącymi a stężeniem w grupie pacjentów z PG bez współistniejącej kolagenozy (p=0,14) (Tabela 36).

Tabela 36. Porównanie stężenia Il-8 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współlistniejącą kolagenozą i bez takiego współlistnienia.

	IL-8 Średnie	IL-8 Odch.std	IL-8 Minimum	IL-8 Maksimum	IL-8 Q25	IL-8 Mediana	IL-8 Q75	p
Nie	53,82	43,21	0,92	159,34	24,53	47,00	59,30	0,14
Tak	17,16	1,45	16,14	18,19	16,14	17,16	18,19	

W grupie chorych niepalących z piodermią zgorzelinową średnie stężenie Il-8 wynosiło 55,99 ±46,28 pg/ml (zakres 1,29-159,34 pg/ml; mediana 42,48 pg/ml). W grupie badanych chorych na piodermię zgorzelinową, palących co najmniej pół paczki papierosów na dobę lub więcej (przez co najmniej rok) średnie stężenie Il-8 wynosiło 47,12±38,29 pg/ml (0,92-150,68 pg/ml; mediana 47,57 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniu Il-8 w surowicy krwi pacjentów między grupą palących i niepalących (p=0,54) (Tabela 37).

Tabela 37. Porównanie stężeń Il-8 w grupie badanych chorych na piodermię zgorzelinową niepalących i grupie chorych z piodermią zgorzelinową palących co najmniej pół paczki/dobę przez ostatni rok lub więcej.

	IL-8 Średnie	IL-8 Odch.std	IL-8 Minimum	IL-8 Maksimum	IL-8 Q25	IL-8 Mediana	IL-8 Q75
Nie	55,99	46,28	1,29	159,34	22,88	42,48	62,49
Tak	47,12	38,29	0,92	150,68	17,04	47,57	58,83

IL-8: p=0,54

5.3.3. Interleukina 17

Stężenie Il-17 zbadano w surowicy krwi 48 pacjentów z piodermią zgorzelinową i u 40 pacjentów w grupie kontrolnej. Wyniki przedstawiono w tabeli 38 i 39.

Tabela 38. Stężenie Il-17 w surowicy krwi grupy badanej.

Lp.	stężenie Il-17 pg/ml
1.	1,078
2.	0,132
3.	0,372
4.	0,174
5.	0,18
6.	0,142
7.	0,121
8.	0,287
9.	0,172
10.	0,214
11.	0,371
12.	0,133
13.	0,724
14.	0,134

15.	0,381
16.	0,129
17.	0,235
18.	0,194
19.	0,158
20.	0,39
21.	0,449
22.	0,168
23.	0,272
24.	0,554
25.	0,612
26.	0,43
27.	0,343
28.	1,556
29.	0,607
30.	0,175
31.	0,175
32.	2,469
33.	0,379
34.	0,289
35.	0,122
36.	0,471
37.	0,223
38.	1,193
39.	0,104
40.	0,207
41.	1,225
42.	0,131
43.	0,337
44.	0,42
45.	0,385
46.	0,472
47.	1,381
48.	0,723

Tabela 39. Stężenie Il-17 w surowicy krwi grupy kontrolnej

Lp.	stężenie Il-17 pg/ml
1.	0,148
2.	0,235
3.	0,178
4.	0,13
5.	0,109
6.	0,116
7.	0,217
8.	0,14

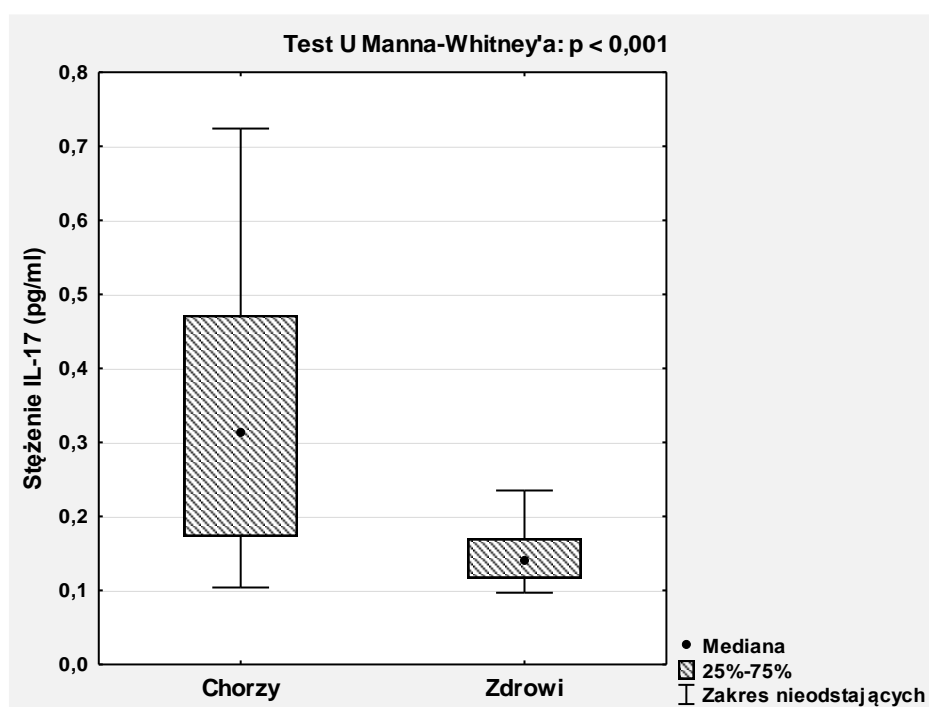
9.	0,146
10.	0,233
11.	0,117
12.	0,156
13.	0,101
14.	0,106
15.	0,134
16.	0,139
17.	0,121
18.	0,127
19.	0,173
20.	0,259
21.	0,199
22.	0,166
23.	0,112
24.	0,203
25.	0,154
26.	0,118
27.	0,167
28.	0,181
29.	0,164
30.	0,111
31.	0,143
32.	0,12
33.	0,136
34.	0,18
35.	0,097
36.	0,115
37.	0,151
38.	0,15
39.	0,103
40.	0,113

Średnie stężenie Il-17 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $0,45 \pm 0,46$ pg/ml (zakres 0,1-2,47 pg/ml ; mediana 0,31 pg/ml). W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,15$ pg/ml \pm 0,04 pg/ml (zakres 0,1-0,26 pg/ml mediana 0,14 pg/ml). Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych jest znamienne statystycznie ($p < 0,001$) (tabela 40, rycina 5).

Tabela 40. Porównanie stężenia Il-17 w surowicy krwi osób chorych na piodermię zgorzelinową z grupą kontrolną.

IL-17	stężenie il-17 pg/ml Średnie	stężenie il-17 pg/ml Odch.std	stężenie il-17 pg/ml Minimum	stężenie il-17 pg/ml Maksimum	stężenie il-17 pg/ml Q25	stężenie il-17 pg/ml Mediana	stężenie il-17 pg/ml Q75
Zdr owi	0,15	0,04	0,1	0,26	0,12	0,14	0,17
Cho rzy	0,45	0,46	0,1	2,47	0,17	0,31	0,47

Rycina 6. Graficzne przedstawienie porównania stężenia Il-17 w surowicy osób chorych na piodermię zgorzelinową i zdrowych .



U kobiet chorujących na piodermię zgorzelinową średnie stężenie Il-17 w surowicy wynosiło $0,43 \text{ pg/ml} \pm 0,48 \text{ pg/ml}$ (zakres $0,1-2,47 \text{ pg/ml}$; mediana $0,29 \text{ pg/ml}$), natomiast u mężczyzn chorych na piodermię zgorzelinową średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,49 \pm 0,43 \text{ pg/ml}$ (zakres $0,12-1,56 \text{ pg/ml}$; mediana $0,34 \text{ pg/ml}$). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic na poziomie stężenia Il-17 pomiędzy grupami osób płci żeńskiej i męskiej ($p=0,65$) (tabela 41).

Tabela 41. Porównanie stężenia IL-17 w surowicy krwi kobiet i mężczyzn chorujących na piodermię zgorzelinową.

	IL-17 Średnie	IL-17 Ważnych	IL-17 Odch.std	IL-17 Minimum	IL-17 Maksimum	IL-17 Q25	IL-17 Mediana	IL-17 Q75
mężczyzna	0,49	17	0,43	0,12	1,56	0,17	0,34	0,72
kobieta	0,43	31	0,48	0,1	2,47	0,17	0,29	0,47

P dla IL17: p=0,65

Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między wiekiem pacjentów grupy badanej chorych na piodermię zgorzelinową a stężeniem IL-17 w surowicy krwi pacjentów (R=-0,16, p=0,29) (tabela 42).

Tabela 42. Korelacja między stężeniem IL-17 w surowicy chorych na PG i wiekiem pacjentów.

Wiek (test korelacji rang Spearmana)

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana (Robocze2 chorzy) BD usuwane parami Oznaczone wsp. korelacji są istotne z p <,05000		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-17 & wiek	48	-0,16	0,29

Porównując zależność między liczbą owrzodzeń u pacjenta a stężeniem IL-17 w surowicy krwi nie wykazano istotnej korelacji statystycznej (R=-0,16, p =0,27)(tabela 43).

Tabela 43. Korelacja między stężeniem IL -17 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową a łączną liczbą owrzodzeń u pacjenta.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-17 & Liczba owrzodzeń	48	-0,16	0,27

Ponadto nie wykazano istotnie statystycznie korelacji między IL-17 a łączną powierzchnią owrzodzeń u chorych na piodermię zgorzelinową (R=-0,17, p=0,25)(tabela 44).

Tabela 44. Korelacja między stężeniem IL-17 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową a łączną powierzchnią owrzodzenia.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-17 & łączna powierzchnia owrzodzenia w cm kw.	48	0,17	0,25

Analizując lokalizację owrzodzeń w przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach dolnych, średnie stężenie IL-17 wynosiło $0,46 \pm 0,49$ pg/ml (zakres 0,12-2,47 pg/ml; mediana 0,29 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p=0,58$).

W przypadku owrzodzeń na tułowi średnie stężenie IL-17 wynosiło $0,39$ pg/ml $\pm 0,2$ (zakres 0,1-0,61; mediana 0,42 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p<0,67$).

W przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach górnych średnie stężenie IL-17 wynosiło $0,34$ pg/ml $\pm 0,23$ (zakres 0,13-0,61; mediana 0,47 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p=0,95$).

W przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na głowie i szyi średnie stężenie IL-17 wynosiło $0,12$ pg/ml ± 0 (zakres 0,12-0,12; mediana 0,12 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p=1,0$). Podsumowując nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w przypadku stężenia IL-17 we krwi chorych w zależności od lokalizacji owrzodzenia.

Tabela 45. Porównanie stężeń IL-17 w surowicach krwi chorych na PG z owrzodzeniami w różnych lokalizacjach.

	IL-17 Średnie	IL-17 Odch.std	IL-17 Minimum	IL-17 Maksimum	IL-17 Q25	IL-17 Mediana	IL-17 Q75	P
Kończyny dolne	0,46	0,49	0,12	2,47	0,17	0,29	0,42	0,58
Tułów	0,39	0,2	0,1	0,61	0,21	0,42	0,58	0,67
Kończyny górne	0,34	0,23	0,13	0,61	0,13	0,47	0,55	0,95
Głowa/szyja	0,12	0	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	1,0

Analizując zjawisko patergii w powiązaniu ze stężeniem IL-17, w przypadku pacjentów bez zjawiska patergii średnie stężenie IL-17 wynosiło $0,49$ pg/ml $\pm 0,52$ (zakres 0,12-2,47 pg/ml; mediana 0,31 pg/ml). U pacjentów zgłaszających zjawisko patergii średnie stężenie IL-17 wynosiło $0,39 \pm 0,34$ pg/ml (zakres 0,10-1,56 pg/ml; mediana 0,32 pg/ml). Nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między stężeniem IL-17 w surowicy krwi chorych na PG z współistniejącym zjawiskiem patergii i bez niego ($p=0,92$) (tabela 46).

Tabela 46. Porównanie stężenia IL-17 w surowicy krwi chorych na piodermie zgorzelinową w zależności od występowania zjawiska patergii.

	IL-17 Średnie	IL-17 Odch.std	IL-17 Minimum	IL-17 Maksimum	IL-17 Q25	IL-17 Mediana	IL-17 Q75	P
Patergia nieobecna	0,49	0,52	0,12	2,47	0,16	0,31	0,55	0,92
Patergia obecna	0,39	0,34	0,10	1,56	0,18	0,32	0,43	

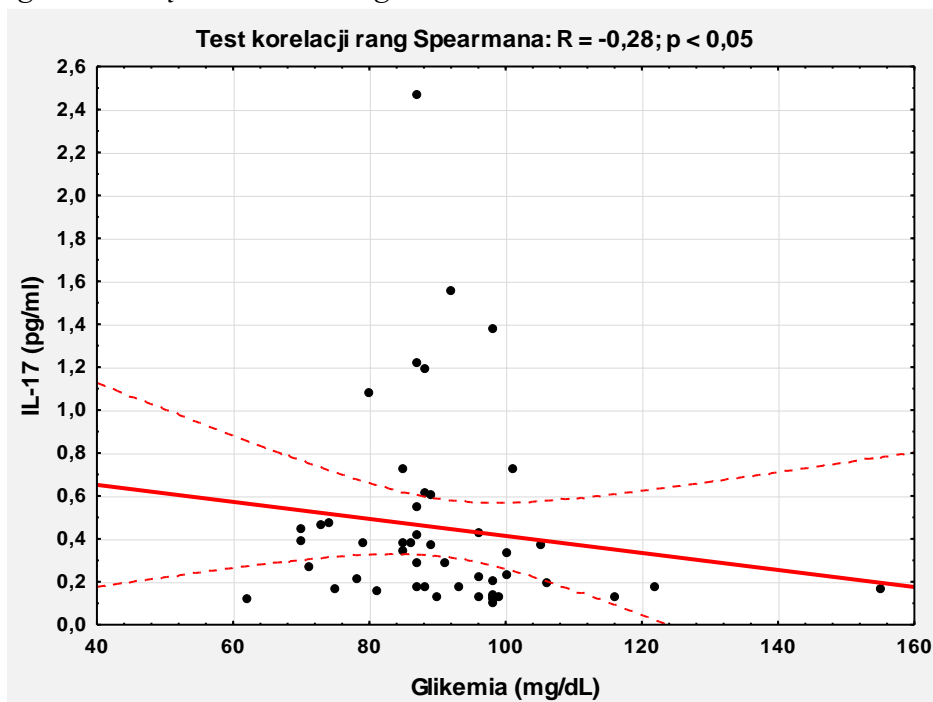
Wykonano także analizę korelacji stężenia IL-17 w surowicy krwi chorych ze stężeniem różnych parametrów biochemicznych. Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między stężeniem IL-17 a stężeniem: kreatyniny, RBC, WBC, HGB, ALAT, IgG, IgM, IgA i białka całkowitego (wartości R i wartości p zawarto w tabeli 47). Wykazano natomiast istotnie statystyczną zależność między stężeniem IL-17 a stężeniem glukozy ($R=-0,29, p<0,05$) (tabela 47, Rycina 7).

Tabela 47. Korelacja między stężeniem IL-17 w surowicy krwi pacjentów a stężeniem parametrów biochemicznych.

IL-17

	R Spearman	p
CRP mg/l & IL-17	0,16	0,26
kreatynina mg/dL & IL-17	-0,09	0,53
RBC10*6 /uL & IL-17	-0,02	0,87
WBC 10*3 /uL & IL-17	-0,13	0,37
HGB g/dL & IL-17	-0,08	0,59
glukoza mg/dL & IL-17	-0,29	<0,05
ALAT U/L & IL-17	-0,1	0,48
ASPAT U/L & IL-17	0,11	0,44
IgG g/L N: 8-17 & IL-17	0,12	0,4
IgM g/L N: 0,5-3,2 & IL-17	-0,01	0,93
IgA g/L N:1-4,9 & IL-17	-0,21	0,15
białko całkowite g/dL 6,4-8,3 & IL-17	-0,03	0,86

Ryc. 7. Zależność graficzna między stężeniem IL-17 w surowicy krwi pacjentów z piodermią zgorzelinową a wartościami glikemii.



Poddano analizie także stężenie IL-17 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną jelit oraz bez chorób zapalnych jelit w wywiadzie.

U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała choroba zapalna jelit średnie stężenie IL-17 wynosiło $0,54 \pm 0,47$ pg/ml (zakres 0,17-1,19 pg/ml; mediana 0,32 pg/ml).

U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej choroby zapalnej jelit w wywiadzie średnie stężenie IL-17 wynosiło $0,44 \pm 0,46$ pg/ml (zakres 0,1-2,47 pg/ml; mediana 0,31 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-17 w grupie pacjentów z PG i chorobą zapalną jelit a stężeniem w grupie pacjentów z PG bez współistniejącej choroby zapalnej jelit ($p=0,62$) (Tabela 48).

Tabela 48. Porównanie stężenia IL-17 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną jelit i bez takiego współistnienia.

	IL-17 Średnie	IL-17 Odch.std	IL-17 Minimum	IL-17 Maksimum	IL-17 Q25	IL-17 Mediana	IL-17 Q75	P
Ch. zapalna jelit obecna	0,44	0,46	0,10	2,47	0,17	0,31	0,47	0,62
Ch. zapalna jelit nieobecna	0,54	0,47	0,17	1,19	0,17	0,32	1,08	

Poddano analizie stężenie Il-17 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermie zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną stawów oraz bez chorób zapalnych stawów w wywiadzie. U chorych na piodermie zgorzelinową, u których współistniała choroba zapalna stawów średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,24 \pm 0,16$ pg/ml (zakres 0,13-0,47 pg/ml; mediana 0,17 pg/ml). U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej choroby zapalnej stawów w wywiadzie średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,47 \pm 0,47$ pg/ml (zakres 0,10-2,47 pg/ml; mediana 0,34 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem Il-17 w grupie pacjentów z PG i chorobą zapalną stawów a pacjentów z PG bez współistniejącej choroby zapalnej stawów ($p=0,25$) (Tabela 49).

Tabela 49. Porównanie stężenia Il-17 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną stawów i bez takiego współistnienia.

	IL-17 Średnie	IL-17 Odch.std	IL-17 Minimum	IL-17 Maksimum	IL-17 Q25	IL-17 Mediana	IL-17 Q75	p
Nie	0,47	0,47	0,10	2,47	0,18	0,34	0,51	0,25
Tak	0,24	0,16	0,13	0,47	0,15	0,17	0,32	

Poddano analizie stężenie Il-17 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermie zgorzelinową ze współistniejącą kolagenozą oraz bez kolagenoz w wywiadzie. U chorych na piodermie zgorzelinową, u których współistniała kolagenoza średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,29 \pm 0,11$ pg/ml (zakres 0,21-0,37 pg/ml ; mediana 0,29 pg/ml). U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej kolagenozy w wywiadzie średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,46 \pm 0,47$ pg/ml (zakres 0,10-2,47 pg/ml; mediana 0,31 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem Il-17 w grupie pacjentów z PG i kolagenozami współistniejącymi a stężeniem Il-17 w grupie pacjentów z PG bez współistniejącej kolagenozy ($p=0,9$) (Tabela 50).

Tabela 50. Porównanie stężenia Il-17 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą kolagenozą i bez takiego współistnienia.

	IL-17 Średnie	IL-17 Odch.std	IL-17 Minimum	IL-17 Maksimum	IL-17 Q25	IL-17 Mediana	IL-17 Q75	p
Nie	0,46	0,47	0,10	2,47	0,17	0,31	0,47	0,9
Tak	0,29	0,11	0,21	0,37	0,21	0,29	0,37	

W grupie chorych niepalących z piodermią zgorzelinową średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,50 \pm 0,53$ pg/ml (zakres 0,10-2,47 pg/ml ; mediana 0,34 pg/ml). W grupie badanych chorych na piodermię zgorzelinową, palących co najmniej pół paczki papierosów na dobę lub więcej (przez co najmniej rok) średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,38 \pm 0,32$ pg/ml (0,12-1,23 pg/ml; mediana 0,26 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniu Il-17 w surowicy krwi pacjentów między grupą palących i niepalących ($p=0,48$) (Tabela 51).

Tabela 51. Porównanie stężeń Il-17 w grupie badanych chorych na piodermię zgorzelinową niepalących i grupie chorych z piodermią zgorzelinową palących co najmniej pół paczki/dobę przez ostatni rok lub więcej.

	IL-17 Średnie	IL-17 Odch.std	IL-17 Minimum	IL-17 Maksimum	IL-17 Q25	IL-17 Mediana	IL-17 Q75
Nie	0,50	0,53	0,10	2,47	0,18	0,34	0,58
Tak	0,38	0,32	0,12	1,23	0,17	0,26	0,43

Analiza:

IL17: p=0,48

5.3.4. Interleukina 23

Stężenie Il-23 zbadano w surowicy krwi 48 pacjentów z piodermią zgorzelinową i u 40 pacjentów w grupie kontrolnej. Wyniki przedstawiono w tabeli 52 i 53.

Tabela 52. Stężenie Il-23 w surowicy krwi grupy badanej.

Lp.	stężenie Il-23 pg/ml
1.	79,473
2.	53,115
3.	103,562
4.	37,669
5.	99,371
6.	36,673
7.	108,387
8.	39,429
9.	44,83
10.	73,893
11.	65,464
12.	44,568
13.	43,943
14.	43,58
15.	40,597
16.	66,851
17.	32,661
18.	67,083
19.	64,315
20.	40,954
21.	57,473
22.	28,167
23.	104,535
24.	54,704
25.	67,721
26.	76,64
27.	61,917
28.	128,986

29.	61,804
30.	45,458
31.	62,088
32.	65,176
33.	50,134
34.	60,954
35.	115,261
36.	55,974
37.	89,186
38.	123,53
39.	88,251
40.	64,544
41.	91,313
42.	118,605
43.	49,489
44.	40,139
45.	58,087
46.	35,634
47.	70,584
48.	90,498

Tabela 53. Stężenie Il-23 w surowicy krwi grupy kontrolnej.

Lp.	stężenie Il-23 pg/ml
1.	93,642
2.	82,271
3.	66,735
4.	43,424
5.	32,132
6.	24,789
7.	39,783
8.	35,732
9.	68,886
10.	78,687
11.	33,774
12.	44,568
13.	38,22
14.	52,352
15.	90,373
16.	32,902
17.	59,825
18.	25,6
19.	63,284
20.	28,912
21.	55,366
22.	28,959

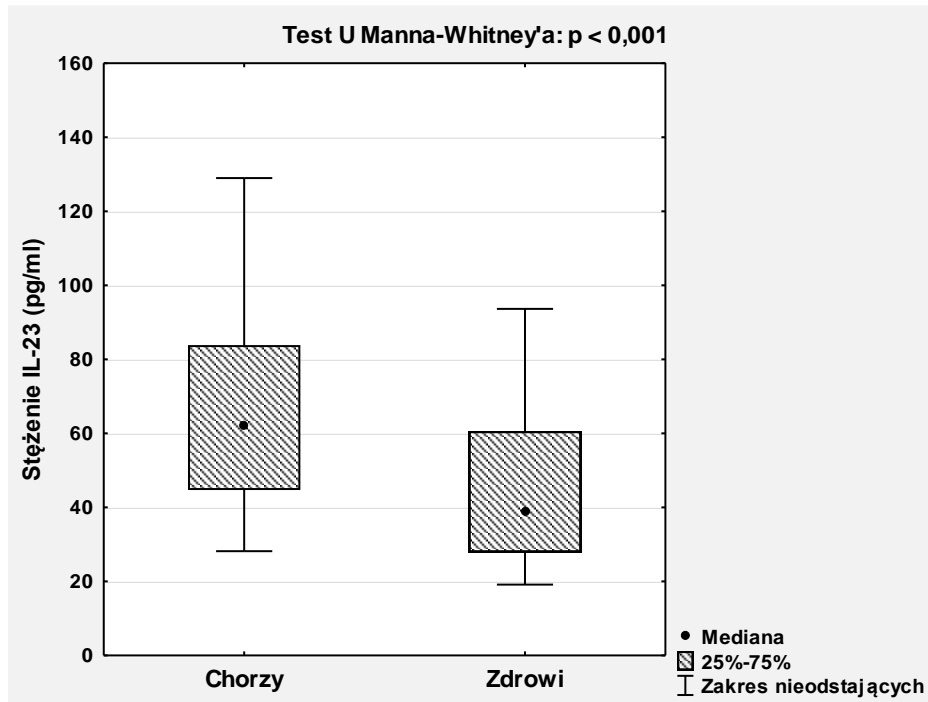
23.	22,966
24.	44,725
25.	146,559
26.	61,35
27.	26,327
28.	26,922
29.	35,486
30.	24,029
31.	19,727
32.	24,609
33.	54,21
34.	70,173
35.	48,1
36.	51,592
37.	31,271
38.	36,822
39.	19,136
40.	23,275

Średnie stężenie IL-23 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $66,73 \pm 26,15$ pg/ml (zakres 28,17-128,99 pg/ml ; mediana 62,0 pg/ml). W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie IL-23 wynosiło $47,19 \pm 25,78$ pg/ml (zakres 19,14-146,56 pg/ml mediana 39,0 pg/ml). Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych była znamieną statystycznie ($p < 0,001$) (tabela 54, rycina 8).

Tabela 54. Porównanie stężenia IL-23 w surowicy krwi osób chorych na piodermię zgorzelinową z grupą kontrolną.

IL-23	stężenie IL-23 pg/ml Średnie	stężenie IL-23 pg/ml Odch.std	stężenie IL-23 pg/ml Minimum	stężenie IL-23 pg/ml Maksimum	stężenie IL-23 pg/ml Q25	stężenie IL-23 pg/ml Mediana	stężenie IL-23 pg/ml Q75
Zdr owi	47,19	25,78	19,14	146,56	27,92	39,0	60,59
Cho rzy	66,73	26,15	28,17	128,99	44,7	62,0	83,86

Rycina 8. Graficzne przedstawienie porównania stężenia IL-23 w surowicy osób chorych na piodermię zgorzelinową i zdrowych.



U kobiet chorujących na piodermię zgorzelinową średnie stężenie IL-23 w surowicy wynosiło 65,92 pg/ml \pm 27,12 pg/ml (zakres 28,17-123,53 pg/ml; mediana 65,18 pg/ml), natomiast u mężczyzn chorujących na piodermię zgorzelinową średnie stężenie IL-23 wynosiło 68,22 \pm 25,01 pg/ml (zakres 43,58-128,99 pg/ml; mediana 61,92 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic na poziomie stężenia IL-23 pomiędzy grupami osób płci żeńskiej i męskiej ($p=0,71$) (tabela 55).

Tabela 55. Porównanie stężenia IL-23 w surowicy krwi kobiet i mężczyzn chorujących na piodermię zgorzelinową.

	IL-23 Średnie	IL-23 Ważnych	IL-23 Odch.std	IL-23 Minimum	IL-23 Maksimum	IL-23 Q25	IL-23 Mediana	IL-23 Q75
mężczyzna	68,22	17	25,01	43,58	128,99	50,13	61,92	79,47
kobieta	65,92	31	27,12	28,17	123,53	40,6	65,18	88,25

P dla IL23: $p=0,71$

Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między wiekiem pacjentów grupy badanej chorych na piodermię zgorzelinową a stężeniem IL-23 w surowicy krwi pacjentów ($R=0,03$, $p=0,84$) (tabela 56).

Tabela 56. Korelacja między stężeniem IL-23 w surowicy chorych na PG i wiekiem pacjentów.

Wiek (test korelacji rang Spearmana)

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana (Robocze2 chorzy) BD usuwane parami Oznaczone wsp. korelacji są istotne z $p < 0,05000$		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-23 & wiek	48	0,03	0,84

Porównując zależność między liczbą owrzodzeń u pacjenta a stężeniem IL-23 w surowicy krwi nie wykazano istotnej korelacji statystycznej ($R = -0,06$, $p = 0,7$) (tabela 57).

Tabela 57. Korelacja między stężeniem IL-23 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową a łączną liczbą owrzodzeń u pacjenta.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-23 & Liczba owrzodzeń	48	-0,06	0,7

Ponadto nie wykazano istotnie statystycznie korelacji między IL-23 a łączną powierzchnią owrzodzeń u chorych na piodermię zgorzelinową ($R = 0,01$, $p = 0,94$) (tabela 58).

Tabela 58. Korelacja między stężeniem IL-23 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową a łączną powierzchnią owrzodzenia.

Para zmiennych	Korelacja porządku rang Spearmana		
	N Ważnych	R Spearman	p
IL-23 & łączna powierzchnia owrzodzenia w cm kw.	48	0,01	0,94

Analizując lokalizację owrzodzeń w przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach dolnych średnie stężenie IL-23 wynosiło $66,07 \pm 27,18$ pg/ml (zakres 28,17-128,99 pg/ml; mediana 62,09 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p = 0,54$).

W przypadku owrzodzeń na tułowie średnie stężenie IL-23 wynosiło $59,65$ pg/ml $\pm 15,71$ (zakres 39,43-88,25; mediana 59,64 pg/ml) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p < 0,58$).

W przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach górnych średnie stężenie IL-23 wynosiło $56,58$ pg/ml $\pm 8,74$ (zakres 43,58-66,85; mediana 55,97 pg/ml) i nie różniło się

istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p=0,46$).

W przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na głowie i szyi średnie stężenie IL-23 wynosiło $108,39 \text{ pg/ml} \pm 0$ (zakres $108,39 - 108,39 \text{ pg/ml}$; mediana $108,39 \text{ pg/ml}$) i nie różniło się istotnie statystycznie od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami innych lokalizacjach ($p=1,0$). Podsumowując nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w przypadku stężenia IL-23 we krwi chorych w zależności od lokalizacji owrzodzenia (tabela 59).

Tabela 59. Porównanie stężeń IL-23 w surowicach krwi chorych na PG z owrzodzeniami w różnych lokalizacjach.

	IL-23 Średnie	IL-23 Odch.std	IL-23 Minimum	IL-23 Maksimum	IL-23 Q25	IL-23 Mediana	IL-23 Q75	P
Kończyny dolne	66,07	27,18	28,17	128,99	43,94	62,09	79,47	0,54
Tułów	59,65	15,71	39,43	88,25	47,83	59,64	67,29	0,58
Kończyny górne	56,58	8,74	43,58	66,85	54,7	55,97	61,8	0,46
Głowa/szyja	108,39	0	108,39	108,39	108,39	108,39	108,39	1,0

W przypadku pacjentów bez zjawiska patergii średnie stężenie IL-23 wynosiło $65,45 \pm 26,17 \text{ pg/ml}$ (zakres $28,17 - 123,53 \text{ pg/ml}$; mediana $61,38 \text{ pg/ml}$). U pacjentów zgłaszających zjawisko patergii średnie stężenie IL-23 wynosiło $68,88 \pm 26,72 \text{ pg/ml}$ (zakres $39,43 - 128,99 \text{ pg/ml}$; mediana $63,78 \text{ pg/ml}$). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic między stężeniem IL-23 w surowicy krwi chorych z PG współistniejącym zjawiskiem patergii i bez niego ($p=0,6$) (tabela 60).

Tabela 60. Porównanie stężenia IL-23 w surowicy krwi chorych na piodermie zgorzelinową w zależności od współwystępowania zjawiska patergii.

	IL-23 Średnie	IL-23 Odch.std	IL-23 Minimum	IL-23 Maksimum	IL-23 Q25	IL-23 Mediana	IL-23 Q75	P
Patergia nieobecna	65,45	26,17	28,17	123,53	44,57	61,38	79,47	0,6
Patergia obecna	68,88	26,72	39,43	128,99	44,83	63,78	88,25	

Wykonano także analizę korelacji stężenia IL-23 w surowicy krwi chorych ze stężeniem różnych parametrów biochemicznych. Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między stężeniem IL-23 a stężeniem: kreatyniny, RBC, WBC, HGB, ALAT, IgG, IgM, IgA i białka całkowitego i glukozy (wartości R i wartości p zawarto w tabeli 61).

Tabela 61. Korelacja między stężeniem IL-23 w surowicy krwi pacjentów a stężeniem parametrów biochemicznych.

IL-23

	R Spearman	p
CRP mg/l & IL-23	-0,15	0,3
kreatynina mg/dL & IL-23	-0,11	0,5
RBC10*6 /uL & IL-23	-0,06	0,7
WBC 10*3 /uL & IL-23	0,13	0,38
HGB g/dL & IL-23	-0,04	0,79
glukoza mg/dL & IL-23	0,16	0,28
ALAT U/L & IL-23	0,06	0,69
ASPAT U/L & IL-23	0,0	1,0
IgG g/L N: 8-17 & IL-23	-0,01	0,94
IgM g/L N: 0,5-3,2 & IL-23	-0,15	0,32
IgA g/L N:1-4,9 & IL-23	-0,08	0,58
białko całkowite g/dL 6,4-8,3 & IL-23	0,08	0,59

Poddano analizie także stężenie IL-23 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną jelit oraz bez chorób zapalnych jelit w wywiadzie.

U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała choroba zapalna jelit średnie stężenie IL-23 wynosiło $68,34 \pm 30,93$ pg/ml (zakres 37,67-123,53 pg/ml; mediana 62,28 pg/ml).

U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej choroby zapalnej jelit w wywiadzie średnie stężenie IL-23 wynosiło $66,51 \pm 25,82$ pg/ml (zakres 28,17- 128,99 pg/ml; mediana 62,0 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-23 w grupie pacjentów z PG i chorobą zapalną jelit a pacjentów z PG bez współistniejącej choroby zapalnej jelit ($p=0,89$). (Tabela 62.)

Tabela 62. Porównanie stężenia IL-23 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną jelit i bez takiego współistnienia.

	IL-23 Średnie	IL-23 Odch.std	IL-23 Minimum	IL-23 Maksimum	IL-23 Q25	IL-23 Mediana	IL-23 Q75	p
Nie	66,51	25,82	28,17	128,99	44,57	62,00	88,25	0,89
Tak	68,34	30,93	37,67	123,53	44,83	62,28	79,47	

Poddano analizie stężenie IL-23 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną stawów oraz bez chorób zapalnych stawów w wywiadzie. U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała choroba zapalna stawów średnie stężenie IL-23 wynosiło $64,27 \pm 37,00$ pg/ml (zakres 37,67-118,61 pg/ml ; mediana 50,40 pg/ml). U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej choroby zapalnej stawów w wywiadzie średnie stężenie IL-23 wynosiło $66,96 \pm 25,52$ pg/ml (zakres 28,17-128,99 pg/ml; mediana 63,20 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-23 w grupie pacjentów z PG i chorobą zapalną stawów a stężeniem IL-23 w grupie pacjentów z PG bez współistniejącej choroby zapalnej stawów ($p=0,6$) (Tabela 63).

Tabela 63. Porównanie stężenia IL-23 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą chorobą zapalną stawów i bez takiego współistnienia.

	IL-23 Średnie	IL-23 Odch.std	IL-23 Minimum	IL-23 Maksimum	IL-23 Q25	IL-23 Mediana	IL-23 Q75	p
Nie	66,96	25,52	28,17	128,99	45,01	63,20	83,86	0,6
Tak	64,27	37,00	37,67	118,61	41,25	50,40	87,29	

Poddano analizie stężenie IL-23 w surowicy krwi w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą kolagenozą oraz bez kolagenoz w wywiadzie. U chorych na piodermię zgorzelinową, u których współistniała kolagenoza średnie stężenie IL-23 wynosiło $69,68 \pm 5,96$ pg/ml (zakres 65,46-73,89 pg/ml ; mediana 69,68 pg/ml). U chorych na piodermię zgorzelinową bez współistniejącej kolagenozy w wywiadzie średnie stężenie IL-23 wynosiło $66,61 \pm 26,70$ pg/ml (zakres 28,17-128,99 pg/ml; mediana 61,86 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic pomiędzy stężeniem IL-23 w grupie pacjentów z PG i kolagenozami współistniejącymi a pacjentów z PG bez współistniejącej kolagenozy ($p=0,51$) (Tabela 64).

Tabela 64. Porównanie stężenia IL-23 w grupie chorych na piodermię zgorzelinową ze współistniejącą kolagenozą i bez takiego współistnienia.

	IL-23 Średnie	IL-23 Odch.std	IL-23 Minimum	IL-23 Maksimum	IL-23 Q25	IL-23 Mediana	IL-23 Q75	p
Nie	66,61	26,70	28,17	128,99	44,57	61,86	88,25	0,51
Tak	69,68	5,96	65,46	73,89	65,46	69,68	73,89	

W grupie chorych niepalących z piodermią zgorzelinową średnie stężenie IL-23 wynosiło $68,63 \pm 25,57$ pg/ml (zakres 28,17-128,99 pg/ml; mediana 65,32 pg/ml). W grupie badanych chorych na piodermię zgorzelinową, palących co najmniej pół paczki papierosów na dobę lub więcej (przez co najmniej rok) średnie stężenie IL-23 wynosiło $64,08 \pm 27,38$ pg/ml (32,66-123,53 pg/ml; mediana 56,72 pg/ml). Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w stężeniu IL-23 w surowicy krwi pacjentów w grupie palących i niepalących ($p=0,34$) (Tabela 65)

Tabela 65. Porównanie stężeń IL-23 w grupie badanych chorych na piodermie zgorzelinową niepalących i grupie chorych z piodermią zgorzelinową palących co najmniej pół paczki/dobę przez ostatni rok lub więcej.

	IL-23 Średnie	IL-23 Odch.std	IL-23 Minimum	IL-23 Maksimum	IL-23 Q25	IL-23 Mediana	IL-23 Q75
Nie	68,63	25,57	28,17	128,99	49,81	65,32	83,86
Tak	64,08	27,38	32,66	123,53	43,76	56,72	79,08

Analiza:

IL-23: p=0,34

6. OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ I DYSKUSJA

Na przestrzeni ostatnich lat obserwuje się dynamiczny rozwój w dziedzinie immunologii, udoskonalają się techniki inżynierii genetycznej i biologii molekularnej, co pozwala na badanie procesów chemicznych i biochemicznych na poziomie komórkowym i cząsteczkowym. Dzięki temu rozwijają się możliwości poznania złożonej etiopatogenezy wielu chorób, co rzutuje na dalsze możliwości diagnostyczne i terapeutyczne.

Jedną z części układu immunologicznego odgrywającą olbrzymią rolę jest skóra. Jest ona swoistą barierą fizyczną, która pozwala na efektywną ochronę przed czynnikami zewnętrznymi. Poza tą funkcją, pełni także rolę zintegrowanego systemu immunologicznego, który jest zlokalizowany w naskórku i skórze właściwej, który w skoordynowany sposób chroni gospodarza. Ta immunologiczna bariera składa się z różnych komórek m.in. keratynocytów, komórek dendrytycznych, makrofagów tkankowych, komórek pamięci T, monocytów, mastocytów i wrodzonych komórek limfoidalnych. Co więcej, napływające komórki T pamięci, monocyty, neutrofile, bazofile i eozynofile są rekrutowane z obiegu krwi, aby wspomagać odpowiedź gospodarza [127].

Chcąc opisać ten złożony układ stworzono koncepcję tkanki limfatycznej powiązanej ze skórą tj. SALT (skin associated lymphoid tissue), która dowodzi, że skóra jest ważnym narządem immunologicznym. Koncepcja ta została po raz pierwszy opisana przez Sterleina [128].

W nowszych publikacjach opisuje się także zjawisko gromadzenia się różnorodnych komórek poniżej stanu zapalnego zlokalizowanego w skórze, nazywane indukowaną tkanką limfatyczną związaną ze skórą - iSALT (inducible skin associated lymphoid tissue). iSALT podkreśla rolę bezpośrednich interakcji między komórkami immunologicznymi skóry [129].

Do chorób o nieznannej etiologii, której przyczyny upatruje się w nieprawidłowych procesach immunologicznych zachodzących w skórze zalicza się piodermię zgorzelinową. Przez lata radykalnie zmieniały się koncepcje etiopatogenezy tej choroby, część z nich obecnie jest już postrzegana jako zupełnie nieprawidłowe np. ta dotycząca ukrytej roli bakterii w indukcji zmian w przebiegu reakcji Schwartzmana [1].

Piodermia zgorzelinowa jest wybitnie przewlekłą, zapalną i niezakaźną chorobą skóry. Ze względu na swój dramatyczny przebieg, szybki postęp choroby, a także dużą bolesność owrzodzeń jest to choroba która znacząco obniża jakość życia pacjentów [130]. Piodermia zgorzelinowa upośledza funkcjonowanie człowieka na wielu płaszczyznach, jest przyczyną cierpienia fizycznego i psychicznego, wstydu, lęku i dyskomfortu. Co gorsza, ze względu na rzadkość występowania piodermii zgorzelinowej, droga do postawienia prawidłowej diagnozy jest niejednokrotnie długa i żmudna, a postawienie złego rozpoznania może w konsekwencji prowadzić do tragedii np. amputacji kończyny na skutek złego leczenia [131].

Pomimo dostępu do różnych metod terapeutycznych leczenie piodermii zgorzelinowej jest wyzwaniem dla lekarza klinicysty. Leki rutynowo stosowane w terapii np. cyklosporyna czy glikokortykosteroidy ogólne mogą nieść za sobą ryzyko istotnych działań niepożądanych, poza tym nie zawsze wykazują się pełną skutecznością. Dlatego też obecnie kładzie się nacisk na poszukiwanie nowych form terapii, których upatruje się w lekach biologicznych.

Przykładem jest infliksimab, monoklonalne przeciwciało anty TNF- α , którego próby stosowania w piodermii zgorzelinowej przynoszą dobrą odpowiedź [132].

Co ciekawe, dobrą odpowiedź dała także próba miejscowego zastosowania infliksimabu przez Teich i Klugmana, którzy u 27-letniej kobiety z oporną na leczenie piodermią zgorzelinową w przebiegu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego, zastosowali sporządzony miejscowy żel z infliksimabem, a leczenie takie pozwoliło na pełne wyleczenie owrzodzenia [133]. Rozwój nowych terapii daje nadzieję na większą skuteczność leczenia piodermii zgorzelinowej, przy jednoczesnym mniejszym ryzyku działań niepożądanych. Potrzeba jednak dalszych obserwacji nad skutecznością różnych leków biologicznych w piodermii zgorzelinowej, a badania dotyczące etiopatogenezy tej choroby mogą wspomóc rozwój nowych koncepcji terapeutycznych.

Przeprowadzone przez autorkę badanie dotyczyło 48 pacjentów z piodermią zgorzelinową, hospitalizowanych w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2015-2019. Warunkiem zakwalifikowania do leczenia był pełnoletni wiek oraz charakterystyczny dla piodermii zgorzelinowej początek, przebieg choroby i obraz kliniczny nie budzący wątpliwości co do rozpoznania, ponadto brak w dotychczasowej terapii leczenia ogólnego.

Grupę badaną stanowiło 48 niespokrewnionych pacjentów z piodermią zgorzelinową, w tym 31 kobiet (64,6%) i 17 mężczyzn (35,4%). Średnia wieku tych pacjentów wynosiła $51,3 \pm 16,9$ lat (przedział 19-85 lat). Stosunek częstości piodermii zgorzelinowej kobiet do mężczyzn, w analizowanej grupie wyniósł 1,82, a więc był podobny do stosunku częstości choroby u płci w doniesieniach z piśmiennictwa. Według większości dostępnego piśmiennictwa obserwuje się nieco częstsze występowanie piodermii zgorzelinowej wśród kobiet, a początek choroby obserwuje się zwykle między 4 a 6 dekadą życia [5,6,7]. Stosunek częstości przypadków PG u kobiet do mężczyzn szacuje się na 1.21, 1.44, czy nawet 3.12 [9]. Zmiany skórne w piodermii zgorzelinowej to owrzodzenia pojedyncze lub mnogie, z podminowanym silnie zapalnym brzegiem. Najczęstszym miejscem lokalizacji owrzodzeń w klasycznej piodermii zgorzelinowej są kończyny dolne, choć opisuje się też inne mniej typowe lokalizacje [56].

Rozległość i ilość owrzodzeń w grupie osób badanych była zróżnicowana. 20 pacjentów miało pojedyncze owrzodzenie (41,7%), 16 pacjentów miało dwa owrzodzenia (33,3%), a 12 pacjentów miało trzy i więcej owrzodzeń (25%).

Biorąc pod uwagę lokalizację zmian, na kończynach dolnych występowały 41 owrzodzenia, 8 na tułowie, 5 na kończynach górnych, a 1 na głowie i szyi. Oceniono także łączną powierzchnię owrzodzeń – średnia łączna powierzchnia owrzodzeń wynosiła $45,68 \text{ cm}^2 \pm 54,93$ (zakres $0,78 - 243,5 \text{ cm}^2$, mediana $19,6 \text{ cm}^2$).

Na podstawie piśmiennictwa współwystępowanie PG z innymi chorobami stwierdza się w 25-75% przypadków [7,63,64]. W bardziej szczegółowej analizie podaje się, że 41% pacjentów z PG ma współistniejące choroby zapalne jelit, 21% zapalne choroby stawów, 7% nowotwory łagodne narządów wewnętrznych, 6% złośliwe rozrosty hematologiczne a pozostałe 5% na inne schorzenia hematologiczne [63]. W analizowanej grupie chorych na piodermię zgorzelinową, która brała udział w badaniu, 25% chorowało na schorzenia dodatkowe, w tym 6 pacjentów miało choroby zapalne jelit w wywiadzie (12,5%), 4 choroby zapalne stawów (8,3%), a 2

pacjentów współistniejące kolagenozy tj. toczeń rumieniowaty układowy (4,2%). Porównując prezentowaną grupę chorych z doniesieniami światowymi [63,65], należy stwierdzić, że w grupie badanej opisano rzadsze niż w piśmiennictwie współistnienie PG z nieswoistym zapaleniem jelit i chorobami stawów. Współwystępowanie piodermii z toczniem układowym jest opisywane rzadko, ale w literaturze są dostępne opisy takich przypadków [134].

W dostępnym piśmiennictwie opisuje się również występowanie w piodermii zgorzelinowej charakterystycznego zjawiska patergii. Częstość tego zjawiska w piodermii zgorzelinowej oceniana jest na 15-31 % w zależności od cytowanego piśmiennictwa [45,46]. Uraz prowokujący pojawienie się owrzodzenia w piodermii zgorzelinowej może być różny. W dostępnym piśmiennictwie opisywano przypadki piodermii zgorzelinowej występującej po iniekcji leków np. zaskakujący przypadek piodermii po iniekcji toksyną botulinową, czy przypadek piodermii zgorzelinowej po podaniu podskórnym azacytydyny w leczeniu zespołu mielodysplastycznego, a także zmiany typu piodermii zgorzelinowej po iniekcjach heparyny drobnocząsteczkowej [135,136,137]. Dostępne są także opisy przypadków, dokumentujące pojawienie się PG po zabiegach operacyjnych [138].

Czynnikiem prowokującym wystąpienie owrzodzeń może być także niewielki uraz np. zakłucie przy pracy w ogrodzie [139,140]. W badanej grupie pacjentów objaw patergii zgłaszało 18 spośród 48 chorych na piodermię zgorzelinową, czyli 37,5 % chorych. Należy zauważyć, że w badanej grupie zjawisko patergii występowało nieco częściej niż w cytowanym piśmiennictwie światowym. Jeden spośród tych chorych zgłaszających objaw patergii podawał oparzenie chemiczne jako czynnik prowokujący chorobę, podczas gdy pozostała grupa chorych z objawem patergii zgłaszała pojawienie się owrzodzenia po urazie mechanicznym (uderzenie). W dostępnej literaturze brakuje przypadków piodermii zgorzelinowej rozwijającej się po oparzeniach chemicznych, jednak dostępne są nieliczne przypadki PG po oparzeniach termicznych, w tym takie gdzie piodermia rozwijała się wiele lat po wygojeniu miejsc oparzonych [141,142].

Analizując nałóg palenia wśród badanej grupy osób z PG, 20 pacjentów było aktywnymi palaczami, paliło pół paczki dziennie lub więcej przez co najmniej ostatni rok lub dłużej, pozostałych 28 chorych nie paliło wcale. Co ciekawe, związek między nikotyną a piodermią zgorzelinową pozostaje niejasny. Mimo że w wielu chorobach dermatologicznych jest to czynnik zdecydowanie zaostrzający przebieg choroby, w piodermii zgorzelinowej może odgrywać działanie ochronne [143,144]. Ponadto wrzodziejące zapalenie jelita grubego, często współistniejące z PG, występuje częściej u osób niepalących, a palenie może spełniać funkcję ochronną chroniącą przed wystąpieniem tej choroby. Tezę taką potwierdziło wiele badań z różnych obszarów geograficznych [144]. Zaskakujące są pojedyncze doniesienia o dużej skuteczności transdermalnych plastrów z nikotyną, gum nikotynowych czy kremu z kwasem nikotynowym w leczeniu owrzodzeń piodermii zgorzelinowej [144,145]. Z drugiej strony, odnotowuje się wyższą częstość manifestacji objawów pozajelitowych w początkowym przebiegu choroby Crohna u pacjentów palących papierosy, a także gorszy przebieg choroby Crohna w przypadku palenia papierosów. Należy pamiętać, że jest to choroba często współistniejąca z piodermią zgorzelinową. Zależność między paleniem a przebiegiem piodermii zgorzelinowej jest więc niejasna i niezbędne są dalsze badania oceniające to zagadnienie [146,147,148,149,150].

W przedstawionej pracy autorka postanowiła oznaczyć stężenia wybranych interleukin (IL-6, IL-8, IL-17 i IL-23) w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową. Ponadto przeanalizowano także dostępne piśmiennictwo omawiające wybrane zagadnienie.

Interesujące są wyniki stężenia interleukin w badaniu własnym autorki. Stężenia wszystkich badanych interleukin tj. IL-6, IL-8, IL-17 i IL-23 były istotnie statystycznie wyższe w grupie pacjentów z piodermią zgorzelinową niż w grupie osób zdrowych ($p < 0,001$). Rolę różnych cytokin prozapalnych w patogenezie piodermii zgorzelinowej podejmuje się coraz częściej na przestrzeni ostatnich lat, co widać po przeanalizowaniu dostępnego piśmiennictwa. Na podstawie analizy dostępnego piśmiennictwa i badań własnych autorki przeanalizowano kolejno poszczególne interleukiny poddane ocenie w badaniu.

Średnie stężenie IL-6 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $10,1 \pm 8,13$ pg/ml (zakres 1,05 -32,38pg/ml; mediana 7,91 pg/ml). W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie IL-6 wynosiło $1,13$ pg/ml $\pm 0,54$ pg/ml (zakres 0,46-3,09 pg/ml, mediana 0,98 pg/ml). Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych jest znamienna statystycznie ($p < 0,001$). Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że IL-6 odgrywa istotną rolę w patogenezie piodermii zgorzelinowej, co może wynikać z jej właściwości prozapalnych. IL-6 inicjuje i reguluje ostrą odpowiedź zapalną, ale także ułatwia jej przejście w fazę przetrwałą, wpływając na przebieg odpowiedzi nabytej i wykazuje wiele działań ogólnoustrojowych [151]. Interleukina ta jest rozpuszczalnym mediatorem o plejotropowym efekcie działania na stan zapalny, odpowiedź immunologiczną i hematopoezę [104].

Jeśli wytwarzanie IL-6 jest nadmierne i długotrwałe to transaktywuje ona komórki, co ułatwia przejście ostrej reakcji zapalnej w fazę przetrwałą i sprzyja rozwojowi autoreaktywnej odpowiedzi immunologicznej oraz powikłaniom o charakterze uogólnionym. Z tych powodów IL-6 przypisuje się istotną rolę w patogenezie chorób zapalnych i autoimmunizacyjnych [104, 151]. Badań dotyczących wzrostu stężenia IL-6 w surowicy, bądź tkankach zmienionych u chorych z piodermią zgorzelinową jest niewiele. W dostępnych publikacjach oznaczano stężenie IL-6 w biopsjach tkanek zmienionych, bądź w surowicy krwi pacjentów. Kozono i Nakahara opisali w 2015 r. przypadek pacjentki z rozległą piodermią zgorzelinową na skórze owłosionej głowy, u której obserwowano zwiększone stężenie IL-6 i IL-8 w surowicy krwi. Co ciekawe, stężenie IL-6 zostało także oznaczone po 4 tygodniach efektywnego leczenia piodermii zgorzelinowej (w leczeniu pacjentki zastosowano prednizolon doustnie w dawce 50 mg /dobę), uwidaczniając istotny spadek stężenia IL-6 z 516 pg/ml do 17 pg/ml [29]. Obserwacje z tego badania mogłyby potwierdzać hipotezę, że stężenie IL-6 wzrasta w aktywnej piodermii zgorzelinowej i obniża się po wyleczeniu owrzodzenia.

Kolios i wsp. zastosowali kanakinumab jako ludzkie przeciwciało monoklonalne rozpoznające IL-1 β , w grupie 5 osób chorych na oporną postać piodermii zgorzelinowej, uzyskując zdecydowaną poprawę u czterech z pięciu chorych. Badacze dowiedli także w swojej pracy zwiększoną ekspresję genów kodujących prozapalne cytokiny w tym IL-6, ale także IL-1a, IL-1b, IL-8 and IL-36a, w porównaniu do ich ekspresji w próbkach skóry zdrowej [26].

W kolejnym opisie przypadku Kawakami i wsp. udokumentowali redukcję stężenia IL-6, IL-8 oraz anti-PS/PT czyli kompleksu anti-fosfatydyloseryna-protrombina (ang. anti-phosphatidylserine–prothrombin complex tj. anti-PS/PT) po zastosowaniu aferezy typu GCAP (ang. Granulocyte and Monocyte Adsorption Apheresis) u chorej na PG i wrzodziejące zapalenie jelita grubego [33].

Warte uwagi są także publikacje dotyczące związku interleukiny 6 z chorobami i zespołami powiązаныmi z piódermia zgorzelinową. Ciekawe obserwacje można wyciągnąć z pracy Mistry i wsp. z 2018 r. Oceniali oni w swojej pracy potencjalną rolę neutrofilowych podjednostek (ang. neutrophil subsets) i pozakomórkowych neutrofilowych struktur zwanych NETs” (Neutrophil Extracellular Traps) w patogenezie zespołu PAPA, w skład którego wchodzi ropne jałowe zapalenie stawów, piódermia zgorzelinowa i trądzik. Jest to autosomalnie dominująco uwarunkowany zespół, łączony z mutacją w genie PSTPIP1/CD2BP1 w chromosomie 15q. Zespół ten wiąże się z nadprodukcją IL-1 β [152]. W badaniu tym oceniano m.in. zdolność struktur NETs, pozyskiwanych z neutrofilów chorych na zespół PAPA, do aktywacji makrofagów, pozyskiwanych od zdrowych dawców. W badaniu oceniono, że pacjenci z PAPA mają podniesione wartości stężeń IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-17A i IFN- γ , podczas gdy cytokiny te były niewykrywalne w zdrowej grupie kontrolnej. Analiza przy użyciu regresji liniowej ujawniła, że stężenie surowiczej IL-6 było skorelowane z krążącymi strukturami NET. Następnie wykazano, że struktury NET pozyskane z neutrofilów PAPA i oraz granulocyty o niskiej gęstości (ang. low-density granulocytes LDG) znacząco indukowały ekspresję mRNA i uwalnianie IL-6 w zdrowej kontrolnej populacji makrofagów [152]. We wnioskach końcowych zwrócono uwagę, iż zespół PAPA ma związek ze zwiększonym stężeniem cytokin prozapalnych, który może wpływać na dysregulację struktur NET, które następnie wzmagają produkcję mediatorów prozapalnych przez makrofagi. Autorzy badania zwrócili uwagę, że dysfunkcja równowagi w formowaniu struktur NET może wpływać na ich działanie in vivo, promując stan zapalny, a co więcej podkreślili rolę zapalnych ścieżek patogenetycznych w zespole PAPA, które obejmują nie tylko IL-1 β , ale również IL-17, IL-6, IL-8 [152].

Ciekawe badanie przeprowadzili także Omenetti i Carta w 2016 r., którzy wyizolowali monocyty od 13 pacjentów z PAPA i 35 zdrowych dawców. Przy zastosowaniu metody ELISA oceniano sekrecję IL-1 β , IL-1 α , IL-1Ra, IL-6, IL-18 i TNF- α . Sekrecja IL-1 β była zwiększona i korelowała z aktywnością choroby, jednak analiza nie wykazała żadnej znaczącej różnicy w uwalnianiu IL-6, IL-8 i IL-1 α w aktywnym PAPA w porównaniu do zdrowych dawców z grupy kontrolnej. Co ciekawe, pacjenci z wywiadem wskazującym na zajęcie układu kostno-stawowego uwalniali więcej IL-1 β , IL-6 oraz TNF- α w porównaniu z tymi pacjentami, u których dominowały zmiany skórne [153]. Interleukina-6 pełni niezaprzeczną rolę w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów, które może współwystępować z piódermią zgorzelinową. W badaniach na zwierzętach poddano modyfikacjom genetycznym myszy, pobudzając nadprodukcję IL-6 bądź całkowite wyeliminowanie tej cytokiny. Brak IL-6 uodparniał myszy na rozwój indukowanego doświadczalnie zapalenia stawów, a stała aktywacja szlaku przekazywania sygnału dla tej cytokiny powodowała spontaniczne zapalenie stawów o podłożu autoimmunizacji [151].

Co istotne, leczenie chorych na RZS tocilizumabem, czyli przeciwciałem swoistym dla IL-6R blokującym oddziaływanie IL-6 przez drogę klasyczną i transaktywację, skutecznie opanowuje ostry proces chorobowy w reumatoidalnym zapaleniu stawów [154]. Ponadto

istnieją doniesienia o skuteczności leczenia tocilizumabem jałowego zapalenia stawów zespołu PAPA [155]. W 2020 roku Guo opublikował przypadek 7-letniego chłopca z nawracającym jałowym zapaleniem stawów, bez współistniejących zmian na skórze, którego młodszy brat miał podobne objawy. Autor opisał przypadek jako niepełny zespół PAPA, gdyż testy genetyczne wykazały obecność mutacji PSTPIP1 u obu chłopców, mimo braku zmian skórnych. Ich dziadek chorował jednak na nawracającą piodermię zgorzelinową. U chłopca obserwowano podwyższone stężenie Il-6, podczas gdy stężenie innych interleukin nie było podwyższone. Zastosowanie tocilizumabu było skuteczne w omawianym przypadku [155].

Według wiedzy autorki dotychczas opublikowano tylko jeden przypadek skutecznego zastosowania tocilizumabu u pacjenta z piodermią zgorzelinową, która współtowarzyszyła reumatoidalnemu zapaleniu stawów [156]. Potrzebne są więc dalsze badania nad skutecznością takiego leczenia w piodermii zgorzelinowej.

Rola interleukiny-6 jest szeroko opisywana w chorobach zapalnych stawów takich jak wrzodziejące zapalenie jelita grubego i chorobie Leśniowskiego-Crohna. W badaniu Martinez-Fierro obserwowano zwiększone stężenie Il-6 w surowicy krwi pacjentów z IBD. Co ciekawe, stężenie Il-6 w tym badaniu korelowało silnie z cechami klinicznymi chorób zapalnych jelit tj. OB, stężeniem trójglicerydów, glukozy i VLDL (very-low-density-lipoproteins – lipoproteiny o niskiej masie cząsteczkowej) [157].

W badaniu autorki wykonano także analizę korelacji stężenia Il-6 w surowicy krwi chorych ze stężeniem różnych parametrów biochemicznych. Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między stężeniem Il-6 a stężeniem: kreatyniny, RBC, WBC, HGB, stężeniem glukozy, ALAT, IgG, IgM, IgA i białka całkowitego. Wykazano natomiast istotnie statystyczną zależność między stężeniem Il-6 a stężeniem białka C-reaktywnego tj. CRP. Wykazano także istotną statystycznie zależność między stężeniem Il-6 w surowicy krwi pacjentów a wartością aminotransferazy asparaginowej tj. ASPAT.

Związek Il-6 i białka C-reaktywnego (CRP) nie budzi wątpliwości. Te dwa biomarkery są ze sobą ściśle powiązane. Produkcja CRP w wątrobie nasila się pod wpływem Il-6, a także w mniejszym stopniu pod wpływem Il-1 β i innych prozapalnych cytokin. Zarówno Il-6 jak i CRP są wydzielane w dużych ilościach w czasie stanu zapalnego. Podczas wzrostu Il-6 w czasie ostrej fazy zapalnej stężenie CRP wzrasta także od 1 μ g/mL do 1000 μ g/mL w ciężkich układowych infekcjach czy rozległych oparzeniach. Stężenie CRP zaczyna wzrastać 4-6 h od początku infekcji, a jego maksymalny wzrost obserwuje się 1-2 dni później. Podobnie jak Il-6, CRP pobudza fagocytozę przez neutrofile i makrofagi, aktywuje układ dopełniacza, podtrzymuje stan zapalny [158]. Utrzymujące się wysokie stężenie CRP pobudza sekrecję Il-6, Il-1 β i TNF α [159]. Podkreśla się jednak, że CRP odgrywać może również rolę przeciwzapalną, gdyż stymuluje wydzielanie Il-10 oraz rekrutuje inhibitory kompleksu dopełniacza, w rezultacie rozwijając swoje działanie w czasie może oddziaływać też słabo przeciwzapalnie, biorąc udział w przebudowie tkanek i procesach gojenia [158].

Brak jest w piśmiennictwie prac omawiających zależność Il-6 z transaminazą asparaginową (ASPAT). Trudno jest wysunąć jednoznaczne wnioski dotyczące takiej zależności, być może wynika ona z nadreaktywności wątroby w związku z przebiegającym stanem zapalnym.

W przeprowadzonym badaniu u kobiet chorujących na piodermię zgorzelinową średnie stężenie Il-6 w surowicy wynosiło 6,48 pg/ml \pm 5,09 pg/ml (zakres 1,05-18,45 pg/ml; mediana 5,62 pg/ml), natomiast u mężczyzn chorych na piodermię zgorzelinową średnie stężenie Il-6

było wyższe i wyniosło $16,6 \pm 8,67$ pg/ml (zakres 3,36 – 32,38; mediana 16,08 pg/ml). Wykazano istotnie statystycznie różnice na poziomie stężenia Il-6 pomiędzy grupami osób płci żeńskiej i męskiej ($p < 0,001$). Zastanawiająca jest różnica stężeń Il-6 w zależności od płci pacjentów. W takim kontekście ciekawa wydaje się praca Sperryego i Friese, którzy wykazali, że u płci męskiej obserwuje się 40% większe ryzyko niewydolności wielonarządowej i infekcji pourazowych, co jest związane z wyższą syntezą Il-6 u mężczyzn. W omawianym badaniu autorzy oznaczali stężenie różnych interleukin (IL-1 β , TNF-alpha, IL-6, IL-8 i IL-10) w dniu urazu, a potem w 1 i 4 dniu po urazie, u 46 mężczyzn i 34 kobiet. Stężenie interleukiny 6 u mężczyzn było wyższe niż u kobiet, a różnica ta była istotna statystycznie ($p = 0,008$). Jednocześnie nie wykazano istotnie statystycznej różnicy w przypadku pozostałych interleukin. Autorzy są zdania, że wyższe stężenie Il-6 może w tym przypadku odpowiadać za większą podatność mężczyzn na niewydolność wielonarządową pourazową [160]. W innym z badań, skupiającym się na różnicach w produkcji cytokin prozapalnych w zależności od wieku i płci, wykazano także, że młode kobiety mają niższe stężenia interleukin prozapalnych w odpowiedzi na ligand bakteryjny lipopolisacharydowy, w porównaniu do mężczyzn [161]. Mechanizmy autonomiczne odgrywają rolę w regulacji produkcji Il-6, więc różnice w syntezie tej interleukiny w zależności od płci mogą wynikać z różnic aktywności układu autonomicznego [162,163]. Przykładowo zwiększona aktywność układu współczulnego razem z aktywacją receptorów β -adrenergicznych tłumi produkcję cytokin prozapalnych [164].

Wyniki wydają się być niejednolite, gdyż różnice płciowe w wydzielaniu Il-6 badali także O'Connor i wsp. i wykazali większą ekspresję Il-6 w monocytach kobiet indukowaną lipopolisacharydem bakteryjnym, obserwowaną w czasie rytmu dobowego, w stosunku do ekspresji obserwowanej u mężczyzn. Wnioskowali oni, że różnice te mogą być przyczyną częstszego występowania chorób autoimmunologicznych u kobiet [165]. Brak wystarczających badań uniemożliwia wyciągnięcie pewnych wniosków na temat obserwacji różnic stężenia Il-6 dotyczących płci, a zagadnienie to wymaga obserwacji w kolejnych badaniach wykonywanych w przyszłości.

Stwierdzono także wyższe stężenia Il-6 w przypadku lokalizacji owrzodzeń piodermii zgorzelinowej na kończynach dolnych, a niższe w przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na tułowiu, w stosunku do stężeń Il-6 w PG z owrzodzeniami w pozostałych lokalizacjach (głowa i szyja, kończyny górne), a wyniki te były istotne statystycznie. Trudno jednak odnieść się do takich różnic w świetle, niewielkiej liczby badań i publikacji na temat roli Il-6 w PG. Zagadnienie to wymaga dalszych obserwacji.

Odnosząc się kolejno do wyników badań dotyczących Il-8 stwierdzono, że średnie stężenie Il-8 w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $52,29 \pm 42,93$ pg/ml (zakres 0,92-159,34 pg/ml; mediana 46,43 pg/ml). W surowicy krwi osób zdrowych z grupy kontrolnej średnie stężenie Il-8 wynosiło $16,54 \pm 8,59$ pg/ml (zakres 4,09-49,19 pg/ml; mediana 15,48 pg/ml). Różnica w wartości stężenia Il-8 w grupie chorych i zdrowych była znamienna statystycznie ($p < 0,001$). Wykazano także istotną statystycznie korelację między wiekiem pacjentów a stężeniem Il-8 w surowicy krwi pacjentów chorych na piodermię zgorzelinową ($R = 0,4$, $p = 0,005$).

Analizując wybrane piśmiennictwo należy odnieść się do kilku pojedynczych przypadków, w których oznaczano stężenie Il-8 w surowicy lub w owrzodzeniach osób chorujących na PG. I tak w uprzednio cytowanym przez Kozono i Nakahara z 2015 r. przypadku pacjentki z rozległą piodermią zgorzelinową na skórze owłosionej głowy,

obserwowano zwiększone stężenie Il-6 i Il-8 w surowicy krwi [29]. Podobnie w cytowanym powyżej badaniu Kolios i wsp. w grupie 5 osób chorych na oporną postać piodermii zgorzelinowej, oznaczali poziom genów kodujących interleukiny prozapalne w zmienionych tkankach pobranych od chorych. Obserwowali oni wzrost ekspresji tych genów dla IL-1a, IL-1b, IL-6, IL-8 i IL-36a w porównaniu do ich poziomu ekspresji w skórze zdrowych [26]. Natomiast Kawakami i wsp. udokumentowali redukcję stężenia Il-8 po skutecznym leczeniu u chorej na PG i wrzodziejące zapalenie jelita grubego [33].

Interleukina-8 należąca do grupy interleukin prozapalnych, jest potencjalnie chemotaktycznym czynnikiem dla neutrofilów. Indukcja jej syntezy odbywa się pod wpływem Il-1 i TNF- α [166]. Il-8 wywiera swój efekt przez wiązanie do receptorów CXCR1 oraz CXCR2. Receptory te są szeroko rozpowszechnione nie tylko na skórnych melanocytach, ale także na innych komórkach, co sugeruje że Il-8 może brać udział nie tylko w chemotaksji [167]. Wysokie stężenia Il-8 były obserwowane w zmienionych chorobowo tkankach czy w skórze osób z chorobami przewlekłymi np. z łuszczycą zwyczajną, łuszczycą krostkowa i pemfigoidem pęcherzowym, a także niemelanocytowych i melanocytowych guzach skóry. Jednak oceniając stężenie Il-8 należy brać pod uwagę jej zależność od innych cytokin prozapalnych, które wydzielane w nadmiarze mogą indukować jej syntezę [168,169,170].

Ciekawych informacji o roli Il-8 w piodermii zgorzelinowej dostarcza eksperyment przeprowadzony przez Oka i wsp., w którym użyto rekombinowanego adenowirusa, kodującego Il-8, który prowadził do wzrostu produkcji Il-8 o 2000 razy w zainfekowanych nim ludzkich fibroblastach *in vitro*. Ludzką skórę przeszczepiano myszom SCID (severe combined immunodeficiency), a po przyjęciu przeszczepu wstrzykiwano im adenowirusa. To prowadziło do powstawiania po ok. 12 godzinach nacieków w naskórku złożonego z neutrofilów, a następnie do martwicy i powstawiania owrzodzeń podobnych do tych występujących w piodermii zgorzelinowej [34].

Mimo że przyczyna piodermii zgorzelinowej pozostaje niejasna, to rosnąca liczba dowodów mikroskopowych sugeruje, że kluczowa jest rekrutacja neutrofilów powodowana przez wzrost jednej lub kilku cytokin. Il-8 rekrutuje zarówno neutrofile jak i monocyty oraz jest powiązana z różnymi ostrymi i przewlekłymi reakcjami zapalnymi [171].

Oka i wsp. obserwowali nadekspresję Il-8 w obszarach zapalenia, z rekrutacją neutrofilów w tym obszarze [34]. Mediowane przez neutrofile uszkodzenie naczyń i tkanek, prowadziło do formowania się owrzodzenia. Rola Il-8 może wynikać nie tylko z jej działania chemotaktycznego na neutrofile, ale także z aktywacji neutrofilów do produkcji reaktywnych form tlenu i uwalniania enzymów tkankowych na drodze egzoocytozy [34].

Nakajima i wsp. opisali niedawno przypadek okołostomijnej piodermii zgorzelinowej z wysokim wzrostem stężenia w surowicy Il-8, który uległ normalizacji po skutecznym leczeniu. Stężenie Il-8 było wysokie przed leczeniem i wynosiło 13,3 pg/ml, a następnie obniżało się stopniowo do 10,4 w trakcie leczenia, uzyskując poziom 5,7 pg/ml po zakończeniu leczenia. Autorzy uważają, że stężenie surowicze Il-8 odzwierciedla i koreluje z przebiegiem PG, jakkolwiek zauważyli, iż brakuje badań pomiaru Il-8 w surowicy u pacjentów z PG, które pomogłyby ugruntować taki wniosek [172].

Co istotne, podwyższone stężenie Il-8 było obserwowane w zmianach skórnych różnych innych chorób neutrofilowych, a cytokina ta działa synergistycznie z TNF- α przez zapoczątkowanie i podtrzymywanie stanu zapalnego [173].

Marzano i wsp. badali pięciu pacjentów z zespołem PASH, który manifestuje się trądzikiem, piodermią zgorzelinową i zmianami o typie hidradenitis suppurativa (ang. PG, acne, hidradenitis suppurativa). W badaniu tym wykazali oni nadekspresję Il-8 manifestującą się wysokim stężeniem tej interleukiny w owrzodzeniach piodermii zgorzelinowej [174]. W kolejnym badaniu Marzano z 2017 r. poddano porównaniu 13 pacjentów z PG i 7 pacjentów z zespołem PASH. W badaniu tym wykazano nadekspresję interleukin prozapalnych w tym Il-8 (poza tym także IL-1 β , IL-17, TNF α , CXCL1/2/3 i CXCL16) w zmienionych tkankach pacjentów z PG jak i w zespole PASH [175].

Od czasu gdy wykazano, że struktury NET, omawiane wcześniej w kontekście Il-6 rozwijają się dzięki aktywacji neutrofilów, zainteresowano się bezpośrednią rolą jaką odgrywa Il-8 w powstawaniu tych struktur. Brinkmann i wsp. odkryli że neutrofile aktywowane przez Il-8 są zdolne do formowania struktur NET [176]. Il-8 wyekstrahowana z łożyska i syncytiotrofoblastu również jest zdolna do stymulowania neutrofilów prowadząc do formowania struktur NET in vitro [177]. Do formowania struktur NET przyczyniają się różne cytokiny m.in. IL-17, IL-23, IFN- α , IL-1 β , IL-18 i IL-8. Pętla sprzężenia zwrotnego tworzenia struktur NET jest mediowana przez Il-8, tak więc jest ona kluczowa w całym procesie. Wiadomo, iż Il-8 jest proteiną chemotaktyczną, która może być produkowana przez różne komórki związane z zapaleniem. Wydaje się, że w chorobach autoimmunologicznych przeciwciała przeciw cytoplazmie neutrofilów (ANCA) mogą indukować powstawanie struktur NET za pośrednictwem Il-8. Nieprawidłowe struktury NET odgrywają rolę w patogenezie zapalenia naczyń związanych z przeciwciałami przeciw cytoplazmie neutrofilów (ANCA), w toczniu rumieniowatym układowym, reumatoidalnym zapaleniu stawów, łuszczycy, zespole antyfosfolipidowym i innych [178]. Co istotne w kontekście omawianego zagadnienia, nieprawidłowe struktury NET odgrywają także rolę w zespole PAPA, w którego skład wchodzi piodermia zgorzelinowa [152].

Na podstawie danych literaturowych oraz uzyskanych wyników badania autorki (istotnie statystyczny wzrost Il-8 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową) wydaje się, że Il-8 może odgrywać jedną z głównych ról w indukowaniu i podtrzymywaniu stanu zapalnego w piodermii zgorzelinowej.

W badaniu autorki wykazano istotną statystycznie korelację między wiekiem chorych a stężeniem Il-8- starsi pacjenci mieli wyższe stężenia Il-8. Brakuje badań dotyczących takiego zjawiska w piodermii zgorzelinowej. Warto tu odwołać się do badania Clark i Peterson, które wskazywało na nadprodukcję Il-8 w odpowiedzi na stymulację oczyszczonym lipopolisacharydem, w grupie starszych mężczyzn w stosunku do starszych kobiet i grupy ludzi młodych [179]. Wpływ wieku na sekrecję Il-8 wymaga jednak dalszych badań.

Kolejną badaną interleukiną była Il-17. Średnie stężenie Il-17 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło 0,45 \pm 0,46 pg/ml (zakres 0,1-2,47 pg/ml; mediana 0,31 pg/ml). W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie Il-17 wynosiło 0,15 pg/ml \pm 0,04 pg/ml (zakres 0,1-0,26 pg/ml mediana 0,14 pg/ml). Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych jest znamienna statystycznie ($p < 0,001$).

Rola Il-17 wydaje się istotna w etiopatogenezie wielu schorzeń dermatologicznych i autoimmunologicznych m.in. w łuszczycy zwyczajnej i łuszczycowym zapaleniu stawów, zeszywniającym zapaleniu kręgosłupa oraz reumatoidalnym zapaleniu stawów. W badaniach

immunohistochemicznych wykazano także nadekspresję Il-17 w infekcyjnych, zapalnych, neutrofilowych, ziarniniakowych i pęcherzowych chorobach skóry, ponadto również w nowotworach skóry [180].

Interleukina ta jest prozapalną cytokiną produkowaną głównie przez komórki T pomocnicze (Th 17), ale także inne komórki układu immunologicznego takie jak neutrofile, komórki NK, mastocyty, $\alpha\beta$ oraz $\gamma\delta$ komórki T. Rodzina Il-17 składa się z sześciu interleukin (A-F) [179]. Podstawową funkcją interleukiny 17 jest ochrona przed infekcjami bakteryjnymi i grzybiczymi, zwłaszcza przed *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans*. W procesie tym, Il-17 działa przez stymulację produkcji innych cytokin prozapalnych, chemokin pobudzających chemotaksję neutrofilów i peptydów przeciwbakteryjnych [181]. Poza tym Il-17 aktywuje makrofagi, fibroblasty i komórki endotelialne i stymuluje te komórki do uwalniania różnych mediatorów m.in. Il-1, Il-6, G-CSF i TNF- α [182]. Co ciekawe, po urazach skóry receptor typu NOD 3 (NLRP) inflamosomów jest aktywowany i uwalnia masywne ilości Il-1 β i Il-18. Limfocyty Th-17 mają na swojej powierzchni receptory dla Il-1 β i w ten sposób po związaniu tej interleukiny wyzwalana jest produkcja Il-17. Il-17 pobudza rekrutację neutrofilów, celem zapobiegania martwicy i zakażeniom. W tym kontekście postuluje się, że może ona mieć znaczenie w zjawisku Koebnera występującym m.in. w łuszczycy, a być może mechanizm ten ma znaczenie także w paterii [183]. Obfity naciek z neutrofilów, produkujących Il-17 obserwuje się w biopsji ze zmian pacjentów z PG. Ponadto wykryto zwiększone stężenia Il-17 w biopsjach ze zmienionych tkanek, chociaż wydaje się że jej rola jest istotnie mniejsza niż Il-8 [25]. Niemniej jednak Il-17 wywiera potencjalną rolę w oddziaływaniu na migrację leukocytów. Rekrutacja neutrofilów mediowana przez Il-17, zachodzi przez chemokinę CXCL1 i uwolnienie endogennych tachykinin, które pośredniczą w rekrutacji neutrofilów przez oddziaływanie na receptory komórek NK (ang. natural killers) typu 1. Następnie Il-17 indukuje uwalnianie cytokin takich jak Il-6 i Il-8, których rolę w PG omawiano powyżej.

Zwiększoną aktywność komórek T i zwiększone stężenie Il-17 w zmianach skórnych pacjentów z piodermią zgorzelinową potwierdzają także nowsze badanie Marzano i wsp. z 2017 r. obejmujące grupę chorych z PG (13 osób) i zespołem PASH (7 osób). Ekspresja Il-1 β i Il-17 w skórze chorych na PG i PASH była zwiększona, a ponadto obecne były mutacje genowe w głównych genach związanych z chorobami autoimmunologicznymi tj. mutacje w genach m.in. MEFV, NLRP3, NLRP12, NOD2 i LPIN2 u pacjentów z PG i zespołem PASH [175].

W piśmiennictwie podkreśla się także rolę Il-17 w chorobie Behceta, w której również podobnie jak w PG występuje zjawisko paterii. W ciekawym badaniu Al-Zifzaf i wsp. stężenie Il-17 było istotnie wyższe u chorych z chorobą Behceta niż u osób zdrowych. Wyższe poziomy Il-17 notowano w przypadku pacjentów z zajęciem narządu wzroku oraz zmianami neurologicznymi, a także w przypadku aktywnej choroby Behceta, choć pacjenci z nieaktywną chorobą również mieli znacząco wyższe stężenia surowiczej IL-17 niż osoby zdrowe [184]. Podobne wyniki opublikowali Chi i wsp., którzy wykazali wysokie stężenia IL-17 u pacjentów z chorobą Behceta i zmianami ocznymi (zapalenie naczyniówki) [185].

W związku z rolą Il-17, którą może ona odgrywać w etiopatogenezie piodermii zgorzelinowej, pouczające byłyby próby leczenia piodermii zgorzelinowej przy użyciu sekukinumabu czyli ludzkiego monoklonalnego przeciwciała, które wiąże Il-17. Sekukinumab jest z powodzeniem wykorzystywany w leczeniu łuszczycy, zeszywniejącym zapaleniu stawów kręgosłupa i łuszczycowym zapaleniu stawów.

W dostępnej literaturze opisano przypadek 52-letniej pacjentki, z reumatoidalnym zapaleniem stawów, która po operacji ortopedycznej dłoni, rozwinęła rozległą pooperacyjną piodermię zgorzelinową na obu dłoniach. Pacjentka nie tolerowała cyklosporyny, a po leczeniu glikokortykosteroidami doustnymi poprawa była niewielka. Następnie stosowano ustekinumab, etanercept z metotreksatem, jednak z powodu rozległości zmian i miernej poprawy zdecydowano zmienić terapię na podskórny sekukinumab 300 mg w schemacie 1x w tygodniu w tygodniach 0,1,2,3 i 4 a następnie co 4 tyg. w połączeniu z prednisolonem (w dawce dobowej 30 mg). Dawkę zwiększono w 16 tyg. na 300 mg sekukinumabu 1x w tyg. Po 20 tyg. terapii uzyskano wyraźną poprawę tj. pełne wygojenie na rękę lewej i dużą poprawę na rękę prawej [186].

Brakuje innych opisów przypadków skutecznego leczenia PG przy użyciu antagonistów Il-17. Wydaje się, że sekukinumab, ixekizumab i brodalumab jako antagoniści Il-17, mogą hamować migrację neutrofilów i okazać się skuteczne w procesie leczenia PG. Jednak dalsze badania są niezbędne, zważywszy, że istnieją także doniesienia o reakcjach paradoksalnych po zastosowaniu leków biologicznych [186]. Opisano między innymi przypadek wyindukowania piodermii zgorzelinowej u 33-letniej kobiety z ciężką łuszczycą pospolitą, po włączeniu sekukinumabu. Autorzy przypadku odczytują takie zjawisko jako reakcję paradoksalną, czyli niealergiczną reakcję przeciwną do efektu zamierzonego [187]. Podobne zjawisko opisali Jin i Matsuzaki u pacjentki z łuszczycą zwyczajną, u której zmieniono leczenie adalimumabem na sekukinumab, co spowodowało pojawienia się owrzodzeń piodermii zgorzelinowej na podudziach [188].

W badaniu autorki wykazano także istotnie statystyczną zależność między stężeniem Il-17 a stężeniem glukozy ($R=-0,29, p<0,05$). Szukając zależności między stężeniem glukozy a Il-17, warto zwrócić uwagę na fakt, że podwyższone stężenie glukozy jest niezależnym czynnikiem ryzyka, który wzmacnia ekspresję cytokin prozapalnych i aktywację leukocytów u osób chorych na cukrzycę [189].

Ostatnią z oznaczanych interleukin była Il-23. Średnie stężenie Il-23 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $66,73 \pm 26,15$ pg/ml (zakres 28,17-128,99 pg/ml; mediana 62,0 pg/ml). W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie Il-17 wynosiło $47,19 \pm 25,78$ pg/ml (zakres 19,14-146,56 pg/ml mediana 39,0 pg/ml). Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych była znamienna statystycznie ($p<0,001$).

Interleukina 23 odgrywa niewątpliwie duże znaczenie w przypadku choroby Crohna, której współwystępowanie z piodermią zgorzelinową jest dość częste [43, 190,191]. Ponieważ Il-23 odgrywa kluczową rolę w procesie zapalnym w powiązaniu z Il-17, a zwłaszcza w rekrutacji neutrofilów, uważa się, że patofizjologia piodermii zgorzelinowej jest zbliżona do patofizjologii choroby Crohna czy łuszczycy [43].

W przypadku 37-letniej kobiety z piodermią zgorzelinową, która była oporna na leczenie standardowymi schematami terapeutycznymi, Guenowo i wsp., pobrali fragmenty zmienionych tkanek z owrzodzeń, które wykazały wzrost ekspresji Il-23 na poziomie transkrypcji jak i na poziomie produkcji białka. W badaniu tym włączono leczenie ustekinumabem, które znacząco obniżyło ekspresję Il-23 i pozwoliło na uzyskanie całkowitego wyleczenia po 14 tygodniach terapii. Co więcej, nie odnotowano nawrotów w ciągu 6 tygodniach od zakończenia leczenia [43].

Kolejnym ciekawym przypadkiem opublikowanym w najnowszym piśmiennictwie, istotnym dla potencjalnego znaczenia IL-23 w pioderмии zgorzelinowej, jest przypadek opisany przez Vallerand i Hardin. Jest to przypadek 47-letniego mężczyzny, który rozwinął piodermię zgorzelinową na bocznej powierzchni nogi. Pacjent chorował także na miastenię gravis i pozostawał na długoterminowym leczeniu glikokortykosteroidami systemowymi. Co ciekawe, pacjent zgłosił, że pojawienie owrzodzenia było spowodowane uderzeniem o metalową krawędź, więc wystąpiło u niego zjawisko patergii, charakterystyczne dla pioderмии zgorzelinowej. Postawienie rozpoznania PG było dodatkowo potwierdzone wycinkiem histologicznym. Co więcej, po dalszych badaniach wykazano, że pacjent choruje także na monoklonalną gammopatie o nieznanym pochodzeniu. Warto zauważyć, że pacjent rozwinął PG w czasie leczenia systemowego glikokortykosteroidami w dużych dawkach, które zażywał z powodu miastenii gravis. Początkowo leczono go wlewami immunoglobulin dożylnych i mykofenolanem mofetilu, bez poprawy. Ustekinumab włączono w dawkach zgodnych z protokołem stosowanym w chorobach zapalnych jelit, a po 6 miesiącach odnotowano znaczącą poprawę w rozmiarze owrzodzenia (zmniejszenie wymiarów o połowę) [192].

W dostępnej literaturze autorka znalazła jeszcze trzy podobne przypadki dotyczące pacjentów z piodermią zgorzelinową, gdzie ustekinumab wykazał się dużą skutecznością. Brakuje jednak dużych badań randomizowanych, które potwierdzałyby jego skuteczność, a opisywane przypadki są jedynie próbami klinicznymi, które zakończyły się sukcesem [193,194,195]. W większości opisanych przypadków ustekinumab był zastosowany w dawce 90 i więcej miligramów, poza przypadkiem Greb i Gottlieb, którzy zastosowali dawkę większą-180 mg jako dawkę początkową [193]. Ustekinumab to w pełni ludzkie przeciwciało monoklonalne IgG1k, które wiąże się z dużą swoistością z podjednostką białkową p40 wspólną dla cytokin IL-12 i IL-23. Lek ten hamuje aktywność IL-12 i IL-23, zapobiegając wiązaniu się tych cytokin z ich receptorem białkowym IL-12Rβ1 znajdującym się na powierzchni komórek układu odpornościowego. Ustekinumab ma zastosowanie w leczeniu łuszczycy i łuszczycowym zapaleniu stawów, blokując szlaki cytokin Th1 i Th17, które pełnią kluczową rolę w patologii tych chorób [196].

Należy pamiętać, że IL-12 i IL-23 odpowiedzialne są za różnicowanie naiwnych limfocytów T pomocniczych (ang. T helper – Th) w kierunku Th 1 i Th17, które z kolei wpływają na uwalnianie licznych cytokin prozapalnych tj. IL-2, IL-6, IL-17, IL-21, IL-22, interferon γ , oraz TNF- α . Do efektów działania wymienionych wyżej cytokin należy zaliczyć nasilenie proliferacji keratynocytów, indukcję apoptozy oraz wpływ na mechanizmy immunologiczne, stanowiące podłoże rozwoju licznych chorób [192]. IL-23 jest heterodimerem składającym się z 2 podjednostek : p19 i p40. Podjednostka p40 jest wspólna także dla IL-12. Ponieważ ustekinumab wiąże się z podjednostką p40, jego terapeutyczna skuteczność może oddziaływać na IL-12 lub IL-23, a więc oddziaływać na komórki zapalne Th-1 i/lub Th17 [43]. W obserwowanym przez Guenova i wsp. przypadku wykazano podwyższone stężenie IL-23 przy jednoczesnym braku IL-12 w owrzodzeniach pioderмии zgorzelinowej, co sugeruje że ustekinumab może głównie oddziaływać na ramię IL-23/Th-17, przynajmniej w przypadku PG. Autorzy badania uważają, że dalsze badania ujawnią znaczenie tego zjawiska w innych chorobach autoimmunologicznych. Interesujące wydaje się, że w innych chorobach np. w łuszczycy, przeciwciała przeciwko IL-12/IL-23 p40 podjednostki, okazały się skuteczne, jednak znaczenie terapeutyczne nie jest przypisywane supresji wyłącznie jednej z wymienionych cytokin [43,197,198].

Cosgarea i Lovric opisali przypadek 71-pacjenta z piodermią zgorzelinową na ramieniu, który początkowo wykazał dobrą odpowiedź i pełne wygojenie owrzodzenia po

dwumiesięcznym leczeniu glikokortykosteroidami ogólnie. Po 7 miesiącach od zakończenia terapii pacjent ten rozwinął owrzodzenia w okolicy jąder po cewnikowaniu. Do leczenia włączono także glikokortykosteroidy ogólne, jednak z powodu braku pełnej odpowiedzi leczenie zmodyfikowano dodając cyklosporynę i uzyskano pełne wygojenie owrzodzeń. Jednak po 3 miesiącach u pacjenta ponownie wystąpiło duże owrzodzenia na klatce piersiowej i lewym biodrze, odporne na leczenie sterydami ogólnymi w połączeniu z cyklosporyną A. W tej sytuacji autorzy zastosowali ustekinumab, niestety bez uzyskania poprawy, a wręcz doszło do pojawienia się kolejnych owrzodzeń. Ze względu na nietypowy przebieg, pogłębiono diagnostykę i wykazano raka nerki lewej. Odstąpiono od leczenia farmakologicznego i przeprowadzono radykalną nefrektomię. Po wygojeniu się blizny pooperacyjnej pacjent skarżył się nadal na bolesne owrzodzenia PG. Dlatego włączono ustekinumab z osiągnięciem szybkiej odpowiedzi po kilku dniach od pierwszej aplikacji, a po 3 miesiącach osiągnięto pełne wygojenie zmian [199].

Z kolei Low i Mar opisali trzy przypadki odpornej piodermii zgorzelinowej z różnym nasileniem aktywności choroby, w których to przypadkach ustekinumab okazał się skuteczny, a co istotne nie obserwowano działań niepożądanych w przebiegu leczenia. W badaniu przeprowadzonym przez Guenova oraz wsp., owrzodzenia po zastosowaniu ustekinumabu uległy wygojeniu około 14 tygodnia terapii i nie nawróciły w czasie sześciomiesięcznej obserwacji po zaprzestaniu terapii [43]. W badaniu Low i Mar zauważyli, że chociaż we wcześniejszych publikacjach odpowiedź na leczenie ustekinumabem była obserwowana po ok. 16 tygodniach terapii, to jednak według tych autorów leczenie ustekinumabem powinno być dłuższe i trwać czasem nawet ponad 12 miesięcy. Sugerują oni ponadto, że dawki ustekinumabu stosowane w PG powinny być zdecydowanie wyższe niż te stosowane w leczeniu łuszczycy. Autorzy wysunęli także hipotezę, że wczesne włączenie leczenia ustekinumabem wydaje się duże efektywniejsze i skuteczniejsze niż w przypadkach długo utrzymujących się owrzodzeń opornych na terapię [200].

Na podstawie publikowanych przypadków wykazujących skuteczność ustekinumabu w leczeniu piodermii zgorzelinowej, można wysunąć przypuszczenie, że IL-23 odgrywa istotną rolę w etiopatogenezie piodermii zgorzelinowej. Wniosek taki wydaje się potwierdzać także badanie autorki, jednak zagadnienie to wymaga dalszych badań, w tym oceny skuteczności ustekinumabu na większej liczbie pacjentów z PG.

Podsumowując, piodermia zgorzelinowa pod względem patogenetycznym jest schorzeniem heterogennym. W ostatnich latach publikowane były badania i prace wskazujące na udział różnych interleukin w rozwoju tej dermatozy. Istotny jest jednak fakt, iż to nie jedna cytokina odgrywa decydującą rolę w patogenezie, a cała sieć i poszczególne zależności między nimi wpływają na rozwój i przebieg choroby. Dlatego ważne wydają się dalsze badania nad rolą poszczególnych interleukin w patogenezie tej jednostki chorobowej. Praca autorki wydaje się potwierdzać rolę interleukiny 6,8,17 i 23 w patogenezie PG. Takie wnioski, powinny być jednak potwierdzone na większej grupie pacjentów. Wysunięte wnioski wydają się być istotne, gdyż mogą stwarzać nowe możliwości leczenia celowanego choroby, czyli zastosowania leków biologicznych przeciw poszczególnym interleukinom. Pozwoliłoby to być może na szybsze i skuteczniejsze leczenie piodermii zgorzelinowej oraz znaczną poprawę jakości życia pacjentów. Ponadto w sytuacjach wątpliwych wymienione interleukiny mogłyby odgrywać rolę dodatkowych markerów laboratoryjnych wykorzystywanych w diagnostyce PG. Dalszy dynamicznie postępujący rozwój biologii molekularnej i immunologii niewątpliwie w przyszłości doprowadzi do poznania pełnych mechanizmów patogenetycznych odpowiadających za rozwój piodermii zgorzelinowej.

7.WNIOSKI

1. W analizowanej grupie pacjentów z piodermią zgorzelinową stwierdzono istotnie statystycznie podwyższone stężenie Il-6, Il-8, Il-17 i Il-23, co przemawia za udziałem tych cytokin prozapalnych w patogenezie piodermii zgorzelinowej.
2. Podwyższone stężenie wyżej wymienionych interleukin wskazują na udział w patogenezie choroby mechanizmów immunologicznych.
3. W analizowanej grupie chorych na piodermię zgorzelinową biorącej udział w badaniu 25 % chorowało na schorzenia dodatkowe, w tym 6 pacjentów miało choroby zapalne jelit w wywiadzie (12,5%), 4 choroby zapalne stawów (8,3%), a 2 pacjentów współistniejące kolagenozy tj. toczeń rumieniowaty układowy (4,2%).
4. Istotna statystycznie korelacja między stężeniem Il-6 i CRP może wskazywać rolę efektu prozapalnego wywieranego przez Il-6 w patogenezie piodermii zgorzelinowej.
5. Interleukiny Il-6, Il-8, Il-17 i Il-23 mogą być wykorzystane jako dodatkowe markery laboratoryjne w rozpoznawaniu trudnych diagnostycznie przypadków piodermii zgorzelinowej.
6. Przeprowadzone badania potwierdziły u części badanych (37,5 %) rolę patergii w indukcji zmian chorobowych w piodermii zgorzelinowej.

8. STRESZCZENIE

Piodermia zgorzelinowa jest przewlekłą zapalną, niezakaźną chorobą skóry, która ma istotny wpływ na pogorszenie jakości życia pacjentów. Rozległe owrzodzenia rozwijające się w przebiegu choroby są bolesne i utrudniają codzienne funkcjonowanie pacjentów.

Piodermia zgorzelinowa pozostaje jedną z najbardziej tajemniczych jednostek dermatologicznych na temat której nadal istnieje wiele kontrowersji. Nazwa choroby jest myląca, gdyż nie jest ona wywoływana przez bakterie. Etiologia tej dermatozy nadal pozostaje nieznana. Obecnie uważa się, że dysfunkcja neutrofilów, zaburzenia epigenetyczne i dysregulacje w układzie immunologicznym są głównymi czynnikami biorącymi udział w patogenezie choroby. Najnowsze dane z piśmiennictwa światowego wskazują na prawdopodobny udział interleukin w występowaniu choroby. U części chorych na piodermię zgorzelinową obserwuje się zjawisko patergii czyli pojawiania się zmian chorobowych w miejscu urazu mechanicznego skóry (np. ukłucia, uderzenia). Ponadto u około połowy pacjentów współwystępują choroby systemowe np. choroby zapalne jelit, schorzenia hematologiczne czy zapalenia stawów.

W niniejszej pracy założono, że w patogenezie piodermii zgorzelinowej mogą odgrywać rolę interleukiny prozapalne takie jak Il-6, Il-8, Il-17 i Il-23. Wydaje się, że interleukiny te mogą być markerami laboratoryjnymi i być przydatne w diagnostyce piodermii zgorzelinowej.

Celem pracy była analiza stężenia interleukin prozapalnych (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23) w surowicy krwi chorych z piodermią zgorzelinową oraz analiza zależności surowicznych stężeń badanych interleukin u powyższych chorych z wybranymi parametrami klinicznymi i laboratoryjnymi. W badaniu wzięło udział 48 niespokrewnionych chorych na piodermię zgorzelinową, którzy byli hospitalizowani w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu w latach 2015-2019 r. z powodu pojawienia się choroby. Niezbędnym warunkiem włączenia do badania było ukończenie 18 roku życia. Grupę badawczą stanowiło 17 mężczyzn i 31 kobiet, a wiek pacjentów mieścił się w przedziale od 19 do 85 lat.

Warunkiem koniecznym do zakwalifikowania pacjentów do badania był charakterystyczny dla piodermii zgorzelinowej początek, przebieg choroby i obraz kliniczny nie budzący wątpliwości diagnostycznych, ponadto brak w dotychczasowej terapii leczenia ogólnego. U większości pacjentów choroba została potwierdzona badaniem histologicznym, jednak w poszczególnych przypadkach odstąpiono od niego ze względu na odmowę pacjenta, przy jednoczesnym klasycznym obrazie klinicznym i przebiegu choroby.

Przed rozpoczęciem badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu na niniejszy projekt badawczy (nr opinii KB-448/2018)

U każdego z uczestników projektu badawczego zebrano szczegółowy wywiad lekarski dotyczący przebiegu piodermii zgorzelinowej, w którym uwzględniono: wiek, w którym pojawiła się choroba, czas jej trwania, oraz dynamikę choroby. Pytano także o czynniki indukujące początek choroby takie jak urazy (dokładny rodzaj urazu, w tym ugryzienia, ukłucia, poparzenia czy skaleczenie) oraz o dotychczasową diagnostykę i przebieg leczenia. Poza tym uzyskano też informacje odnośnie przewlekłych chorób współistniejących,

przebytych, obciążenia rodzinnego, stosowanych leków oraz używek. Przeprowadzono także badanie przedmiotowe z oceną zmian skórnych i pomiarem wielkości owrzodzeń. Opisywano także dokładną lokalizację i ilość owrzodzeń, a także wygląd zmiany, w tym obecność martwicy w owrzodzeniu, kolor wysięku oraz kolor i wygląd brzegu zmian. Następnie liczone pole powierzchni zajmowanej przez owrzodzenie lub łączne pole powierzchni w przypadku owrzodzeń mnogich. Pobrano także próbki krwi do badania immunoenzymatycznego celem pomiaru stężenia interleukin prozapalnych oraz celem wykonania badań biochemicznych i morfologii. Wszystkie uzyskane wyniki badania poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem pakietu oprogramowania Statistica v 12.0 (firma Statsoft).

Średnia wieku tych pacjentów wynosiła $51,3 \pm 16,9$ lat (przedział 19-85 lat). Rozległość i liczba owrzodzeń u pacjentów w grupie badanej różniła się. 20 pacjentów miało pojedyncze owrzodzenie (41,7%), 16 pacjentów miało dwa owrzodzenia (33,3%), a 12 pacjentów miało trzy i więcej owrzodzeń (25%). Biorąc pod uwagę lokalizację zmian, na kończynach dolnych było zlokalizowane 41 owrzodzeń, 8 na tułowiu, 5 na kończynach górnych, a 1 na głowie i szyi. Oceniono także łączną powierzchnię owrzodzeń – średnia łączna powierzchnia owrzodzeń wynosiła $45,68 \text{ cm}^2 \pm 54,93$ (zakres 0,78 - 243,5 cm^2 , mediana 19,6 cm^2).

Ponadto 25% pacjentów grupy badanej chorowało na schorzenia współistniejące: 6 pacjentów miało choroby zapalne jelit w wywiadzie, 4 choroby zapalne stawów, a 2 współistniejące kolagenozy.

W grupie badanej patergia była obecna u 37,5% pacjentów, pozostali nie zgłaszali objawu patergii.

Analizując nałóg palenia papierosów 41,6% badanych pacjentów zgłaszało aktywny nałóg palenia (co najmniej pół paczki na dobę lub więcej, przez co najmniej ostatni rok lub dłużej), pozostali nie palili wcale.

Stężenia badanych interleukin (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23) w surowicy krwi chorych grupy badanej z PG były wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i w przypadku każdej z interleukin różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,001$).

Średnie stężenie Il-6 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $10,1 \pm 8,13$ pg/ml, podczas gdy w surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie Il-6 wynosiło $1,13 \text{ pg/ml} \pm 0,54 \text{ pg/ml}$, a różnica ta była istotna statystycznie. Wykazano także istotnie statystycznie różnice na poziomie stężenia Il-6 pomiędzy grupami osób płci żeńskiej i męskiej ($p < 0,001$) tj. stężenia interleukiny 6 były statystycznie wyższe u mężczyzn.

Biorąc pod uwagę lokalizację owrzodzeń w przypadku owrzodzeń zlokalizowanych na kończynach dolnych średnie stężenie Il-6 wynosiło $11,12 \pm 8,317605$ pg/ i było wyższe od wartości obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami w innych lokalizacjach, a różnica ta była istotna statystycznie ($p = 0,02$). W przypadku owrzodzeń na tułowiu średnie stężenie Il-6 wynosiło $2,87050 \text{ pg/ml} \pm 1,6$ i było niższe od wartości

obserwowanych w surowicy krwi pacjentów z owrzodzeniami w innych lokalizacjach, a różnica ta była istotna statystycznie ($p < 0,001$).

Wykazano istotnie statystyczną zależność między stężeniem Il-6 a stężeniem białka C-reaktywnego- CRP ($R=0,34, p=0,02$). Ponadto wykazano także istotną statystycznie zależność między stężeniem Il-6 w surowicy krwi pacjentów a wartością ASPAT ($R=0,31, p=0,03$).

Średnie stężenie Il-8 w surowicy krwi chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $52,29 \pm 42,93$ pg/ml. W surowicy krwi osób zdrowych z grupy kontrolnej średnie stężenie Il-8 wynosiło $16,54 \pm 8,59$ pg/ml. Różnica w wartości stężenia Il-8 w grupie chorych i zdrowych była znamienne statystycznie ($p < 0,001$). Ponadto wykazano istotną statystycznie korelację między wiekiem pacjentów a stężeniem Il-8 w surowicy krwi pacjentów chorych na piodermię zgorzelinową ($R=0,4, p=0,005$), u starszych pacjentów notowane stężenia Il-8 były wyższe.

Średnie stężenie Il-17 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $0,45 \pm 0,46$ pg/ml. W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie Il-17 wynosiło $0,15 \text{ pg/ml} \pm 0,04 \text{ pg/ml}$. Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych była znamienne statystycznie ($p < 0,001$). Wykazano także istotnie statystyczną zależność między stężeniem Il-17 a stężeniem glukozy ($R=-0,29, p < 0,05$).

Średnie stężenie Il-23 w surowicy chorych na piodermię zgorzelinową było wyższe niż w grupie kontrolnej osób zdrowych i wynosiło $66,73 \pm 26,15$ pg/ml. W surowicy krwi osób zdrowych średnie stężenie Il-23 wynosiło $47,19 \pm 25,78$ pg/ml. Różnica w wartości parametru badanego w grupie chorych i zdrowych była znamienne statystycznie ($p < 0,001$).

Na podstawie uzyskanych wyników ustalono, że w analizowanej grupie pacjentów z PG stwierdzono istotnie statystycznie podwyższone stężenie Il-6, Il-8, Il-17, Il-23. Podwyższone stężenie wymienionych interleukin przemawia za udziałem tych cytokin w patogenezie choroby. Istotna statystycznie korelacja między stężeniem Il-6 i CRP może wskazywać rolę efektu prozapalnego wywieranego przez Il-6 w patogenezie piodermii zgorzelinowej.

Czynnikiem indukującym piodermię zgorzelinową mogą być urazy mechaniczne - obserwuje się objaw patergii, czyli indukcji zmian skórnych w miejscu urazu. Piodermia zgorzelinowa może współistnieć z innymi chorobami, w tym głównie z chorobami zapalnymi jelit i stawów, co obserwowano także w zebranych przez autorkę materiale. Podsumowując, potencjalną korzyścią płynącą z lepszego poznania etiopatogenezy piodermii zgorzelinowej będzie poprawa jakości życia pacjentów z tą chorobą poprzez zwiększenie możliwości terapeutycznych na przykład zastosowanie inhibitorów omawianych interleukin. Piodermia zgorzelinowa należy do chorób o nieznannej etiologii, której przyczyny upatruje się w nieprawidłowych procesach immunologicznych zachodzących w skórze. Dalsze pogłębianie wiedzy na temat etiologii tej choroby wymaga badań na poziomie biologii molekularnej.

9.SUMMARY

Pyoderma gangrenosum is a chronic, inflammatory, non-infectious skin disease, deteriorating the quality of life of patients. Large ulcerations rapidly developing during the course of the disease are painful and obstruct everyday functioning. Pyoderma gangrenosum is one of the most controversial and mysterious dermatological units. The name of the disease is confusing, because it is not caused by bacteria. Etiology of the disease is still unclear. It is believed that neutrophil dysfunction, epigenetic changes and immune dysregulation are the main factors that play role in the pathogenesis of pyoderma gangrenosum. Current data from the worldwide literature indicates a probable role for interleukin in the pathogenesis. In some patients patergy phenomenon is observed, which means that new ulcers occur after minor trauma such as bump, bruise or needle stick injury. Moreover in about half of the patients pyoderma gangrenosum is accompanied by systemic diseases such as inflammatory bowel disease, hematopoietic system malignancies or arthritis.

This study assumed that, interleukins such as Il-6, Il-8, Il-17, Il-23 may play role in the pathogenesis of pyoderma gangrenosum. It seems that these interleukins may be additional laboratory markers in diagnosis PG in the future.

The aim of this study was to analyze the level of proinflammatory interleukins (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23) in serum of patients with PG and the correlation of these interleukin concentrations with some clinical parameters and selected laboratory markers. The study involved 48 unrelated patients hospitalized in the Department of Dermatology, Venerology and Allergology, Wroclaw University of Medical Sciences in 2015-2019 due to the onset of the disease. All patients in the study were over 18 years old. The research group involved 17 men and 31 women, aged 19 to 85 years.

The necessary condition for qualifying patients for the study was the characteristic for pyoderma gangrenosum onset of the disease, course of the disease, clinical picture, that did not rise any diagnostic doubts and no history of general treatment in the previous disease treatment. In most of the patients the disease was confirmed by histological examination, but in some cases histological examination was not performed because of the lack of consent for such procedure, while at the same time classical clinical picture of the disease.

Prior to the commencement of the study the consent of the Bioethics Committee of the Medical University of Wroclaw was obtained for this research project (KB-448/2018).

For each participant in the project, a detailed medical history about the course of the PG was collected, including the age at which the disease appeared, the duration and dynamics of the disease. The participants were also asked about factors inducing the onset of the disease such as injuries (precise kind of skin trauma e.g. bite, burning, stick injury) and about previous diagnostics and the history of treatment. In addition each participant was asked about accompanying and past diseases, family diseases, drug usage and addictions. A physical examination of skin and measurement of the ulcers was performed. Detailed information about the appearance of the lesions was collected e.g. precise localization, the number of ulcers, presence of necrosis, color of the lesions and appearance of the lesion's border. Subsequently surface area of the lesion or total area in case of multiple ulcers was measured. A blood sample was collected for enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to measure

the proinflammatory interleukin's concentration and to perform morphology and biochemistry examination. All results were analyzed statistically using the Statistica v 12.0 software package (Statsoft) .

The mean age of patients with pyoderma gangrenosum was $51,3 \pm 16,9$ (range 19-85 years).

The number and size of ulcers were divergent. 20 patients had single ulcer (41,7%), 16 patients had 2 ulcers (33,3%) and 12 patients had 3 or more ulcers (25,5%). Considering localization 41 ulcers were localized on lower limbs, 8 ulcers on the trunk, 5 on upper limbs and 1 on the head and neck. Total area of ulceration was $45,68 \text{ cm}^2 \pm 54,93$ (range 0,78-243,5 cm^2 , median 19,6 cm^2).

Moreover 25% of patients from the study group had accompanying diseases: 6 patients had inflammatory bowel disease, 4 had arthritis and 2 systemic connective tissue disease. 37,5% of patients from the study group had patergy, the others didn't have such symptom.

41,6 % of patients were active smokers (they smoke half a package of cigarettes a day or more, for one year or longer), the rest of the patients didn't smoke at all.

Concentration of interleukins (Il-6, Il-8, Il-17, Il-23) in the serum of patients with PG were higher than those in the healthy control group and for each of the interleukin the difference in the value of the parameter was statistically significant ($p < 0,001$).

The concentration of Il-6 in the serum of patients with PG was at an average $10,1 \pm 8,13$ pg/ml, while the mean concentration in the control group was $1,13 \pm 0,54$ pg/ml and the difference was statistically significant. A statistically significant correlation between concentration of Il-6 in the group of men and women were observed ($p < 0,001$) – concentration of Il-6 in patient's serum was higher in men group.

Considering localization of ulcers, in cases where ulcers were localized on lower limbs the mean concentration of Il-6 was $11,12 \pm 8,317605$ pg/ml and was higher than in cases with ulcers in others localizations. This difference was statistically significant ($p = 0,02$). In cases where ulcers were localized on the trunk the mean concentration of Il-6 was $2,87050$ pg/ml $\pm 1,6$ and was lower than concentration of Il-6 in patients with ulcers localized in other localizations. The difference were statistically significant ($p < 0,001$).

There was statistically significant correlation between concentration of Il-6 and concentration of C-reactive protein (CRP) ($R = 0,34$, $p = 0,02$). Moreover there was statistically important correlation between concentration of Il-6 and AspAT (aspartate transaminase) ($R = 0,31$, $p = 0,03$).

The concentration of Il-8 in the serum of patients with PG was at an average $52,29 \pm 42,93$ pg/ml and was higher than in control group where mean concentration was $16,54 \pm 8,59$ pg/ml. The difference was statistically significant ($p < 0,001$). Moreover there was statistically significant correlation between age and concentration of Il-8 ($R = 0,4$, $p = 0,005$), elderly patients had higher concentration of Il-8.

The concentration of Il-17 in the serum of patients with PG was at an average $0,45\pm 0,46$ pg/ml and was higher than in control group, where the mean concentration was $0,15\pm 0,04$ pg/ml. The difference of this parameter was statistically important ($p<0,001$). There was also statistically significant correlation between Il-17 concentration and glucose concentration in the blood of patients ($R=-0,29$, $p<0,05$).

The mean concentration of Il-23 in the serum of patients was higher than in control group. The concentration of Il-23 in patients with PG was at an average $66,73\pm 26,15$ pg/ml, while in control group the mean concentration of Il-23 was $47,19\pm 25,78$ pg/ml. The difference of this parameter was statistically significant ($p<0,001$).

Based on the results obtained, it was found that significantly higher Il-6, Il-8, Il-17 and Il-23 concentrations were observed in pyoderma gangrenosum patients analyzed, which suggests the role of these interleukins in pathogenesis of PG. Statistically significant correlation between Il-6 and CRP may indicate the role of proinflammatory effect of Il-6 in pathogenesis of PG.

Injuries may induce ulcers in PG and it is described as patergy phenomenon. Pyoderma gangrenosum coexists in some cases with others diseases, mainly with inflammatory bowel diseases or arthritis, and it was seen in the data analyzed by the author.

In conclusion, the potential benefit of better understanding of the pathogenesis of PG will be an improvement in the quality of life for patients with this disease, by implementing therapeutic options, eg. inhibitors of specific interleukins may be used.

Pyoderma gangrenosum belongs to the group of diseases of unknown etiology and which cause are presumably abnormal immunological reactions in the skin. In order to further deepen the understanding of the etiology of this disease, molecular biology research is required.

1. Brunsting LA, GoecKerman WH, O'Leary PA. Pyoderma (ecthyma) gangrenosum: Clinical and experimental observations in five cases occurring in adults. Arch Dermatol Syph 1930; 22: 655-80.
2. Maj J., Hryncewicz-Gwóźdź A., Jankowska-Konsur A., Plomer-Niezgoda E., Baran. E.: Piodermia zgorzelinowa - schorzenie interdyscyplinarne - objawy, przebieg, leczenie. Dermatol.Klin. 2006 T.8 nr 3; 177-179.
3. Cozzani , Gasparini G, Parodi A. Pyoderma gangrenosum: a systematic review.G Ital DermatolVenereol. 2014 ;149:587-600.
4. Monari P, Moro R, Motolese A, Misciali C, et al. Epidemiology of pyoderma gangrenosum: Results from an Italian prospective multicentre study. Int Wound J. 2018;15:875-879.
5. Vidal D, Puig L, Gilaberte M, Alomar A: Review of 26 cases of classical pyoderma gangrenosum: clinical and therapeutic features. J Dermatolog Treat 2004;15:146-152.
6. Al Ghazal P, Herberger K, Schaller J, Strölin A, Hoff NP, Goerge T, et al. Associated factors and comorbidities in patients with pyoderma gangrenosum in Germany: A retrospective multicentric analysis in 259 patients. Orphanet J Rare Dis 2013;8:136.
7. Jankowska-Konsur A., Maj J., Hryncewicz-Gwóźdź.A.: Piodermia zgorzelinowa - badanie retrospektywne 30 pacjentów hospitalizowanych w Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej we Wrocławiu w latach 2000-2010 Przegl.Dermatol. 2012 T.99 nr 1; 10-15.
8. Riyaz N, Mary V, Sasidharanpillai S, Roshin RA, Snigdha O, et al.Pyodermagangrenosum: A clinico-epidemiologicalstudy. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2017;83:33-39.
9. Wollina, U. Pyoderma gangrenosum—a systemic disease? Clinics in Dermatology, 2015; 33: 527–530.
10. Kechichian E, Haber R, Mourad N, El Khoury R., Jabbour S., Tomb R. Pediatric pyoderma gangrenosum: a systematic review and update. Int J Dermatol. 2017 ; 56:486-495.
11. Powell FC, Schroeter AL, Su WP, et al. Pyoderma gangrenosum: a review of 86 patients. Q J Med 1985; 55 : 173-86.
12. Rostenberg Jr A. The Shwartzman phenomenon: a review with a consideration of some possible dermatological manifestations. Br J Dermatol 1953; 65 : 389-405.

13. Filosa A, Filosa G., Neutrophilic dermatoses: a broad spectrum of disease. *G Ital Dermatol Venereol.* 2018;153:265-272.
14. Ahronowitz, I., Harp, J., Shinkai, K. Etiology and Management of Pyoderma Gangrenosum. *American Journal of Clinical Dermatology*, 2012;13:191–211.
15. Adachi Y, Kindzelskii AL, Cookingham G, et al. Aberrant neutrophil trafficking and metabolic oscillations in severe pyoderma gangrenosum. *J Invest Dermatol* 1998; 111 : 259-68.
16. Alberts JH, Sams HH, Miller JL, King LE Jr. Familial ulcerative pyoderma gangrenosum: a report of 2 kindred. *Cutis* 2002; 69:427.
17. Khandpur S, Mehta S, Reddy BS. Pyoderma gangrenosum in two siblings: a familial predisposition. *Pediatr Dermatol* 2001; 18:308.
18. Feki N.B., Smiti-Khanfir M., Said F., Ghorbel I.B., et al. Familial Pyoderma Gangrenosum: About 2 cases *IJCCR.* 2015; 50.
19. Smith E.J., Allantaz F., Bennett L. Clinical, Molecular, and Genetic Characteristics of PAPA Syndrome: A Review. *Curr Genomics.* 2010; 11:519–527.
20. Cugno M, Borghi A, and AV. PAPA, PASH and PAPASH Syndromes: Pathophysiology, Presentation and Treatment. *Am J Clin Dermatol.* 2017;18:555-562.
21. Gameiro A., Pereira N., Cardoso J.C., Gonçalo M., Pyoderma gangrenosum: challenges and solutions. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2015; 8: 285–293.
22. Hsiao JL, Antaya RJ, Berger T, et al. Hidradenitis suppurativa and concomitant pyoderma gangrenosum: a case series and literature review. *Arch Dermatol* 2010; 146 : 1265-70.
23. Geusau A., Mothes-Luksch N., Nahavandi H. Identification of a Homozygous PSTPIP1 Mutation in a Patient With a PAPA-Like Syndrome Responding to Canakinumab Treatment. *JAMA Dermatol.* 2013;149:209–215.
24. Jaeger T., Andres C., Grosber M. Pyoderma gangrenosum and concomitant hidradenitis suppurativa-rapid response to canakinumab (anti-IL-1b) *Eur J Dermatol.* 2013; 23: 408–410.

25. Marzano A.V., Fanoni D., Antiga E. Expression of cytokines, chemokines and other effector molecules in two prototypic autoinflammatory skin diseases, pyoderma gangrenosum and Sweet's syndrome. *Clin Exp Immunol.* 2014; 178:48–56.
26. Kolios A.G.A., Maul J.T., Meier B. Canakinumab for steroid-refractory pyoderma gangrenosum. *Br J Dermatol.* 2015;173:1216–1223.
27. Galimberti R.L, Vacas A.S., Garlatti M.L. The role of interleukin-1 β in pyoderma gangrenosum. *JAAD Case Rep.* 2016; 2: 366–368.
28. Brenner M. , Ruzicka T., Plewig G. ,Thomas, Herzer P. Targeted treatment of pyoderma gangrenosum in PAPA (pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne) syndrome with the recombinant human interleukin-1 receptor antagonist anakinra. *BJD* 2009;161:1199-1201.
29. Kozono K, Nakahara T, Kikuchi S, Itoh E, Kido-Nakahara M, Furue M Pyoderma gangrenosum with increased levels of serum cytokines. *J Dermatol.* 2015 ;42:1186-8.
30. Okuma K, Mitsuishi K, Hasegawa T, Tsuchihashi H, Ogawa H, Ikeda S. A case report of steroid and immunosuppressant-resistant pyoderma gangrenosum successfully treated by granulocytapheresis. *Ther Apher Dial* 2007;11: 387–390.
31. Saito S, Yasui K, Hosoda W et al. CD30+anaplastic large cell lymphoma complicated by pyoderma gangrenosum with increased levels serum cytokines. *Eur J Haematol* 2006;77: 251–254.
32. Nozawa T, Hara R, Kinoshita J et al. .Infliximab for a girl with refractory pyoderma gangrenosum. *Jpn J Clin Immunol* 2008;31: 454–459.
33. Kawakami T., Yamazaki M.,Soma Y. Reduction of Interleukin-6, Interleukin-8, and Anti-Phosphatidylserine–Prothrombin Complex Antibody by Granulocyte and Monocyte Adsorption Apheresis in a Patient With Pyoderma Gangrenosum and Ulcerative Colitis. *AJG* 2009;104: 2363-2364.
34. Oka M., Berking C., Nesbit M. et al. Interleukin-8 Overexpression Is Present in Pyoderma Gangrenosum Ulcers and Leads to Ulcer Formation in Human Skin Xenografts. *LI* 2000;80:595-604.
35. Oka M. Pyoderma gangrenosum and interleukin 8. *Br J Dermatol* 2007; 157: 1279–1281.
36. Cioffi M., De Rosa A., Serao R., Picone I. , Vietri M.T. Laboratory markers in ulcerative colitis: Current insights and future advances. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 2015;15:13–22.

37. Magyari L, Kovesdi E, Sarlos P, Javorhazy A, Sumegi K, Melegh B. Interleukin and interleukin receptor gene polymorphisms in inflammatory bowel diseases susceptibility. *World J Gastroenterol.* 2014; 20:3208–3222.
38. Tanaka N, Fujioka A, Tajima S, Ishibashi A, Hirose S. Elfn is induced in epidermis in skin disorders with dermal neutrophilic infiltration: interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha stimulate its secretion in vitro. *Br J Dermatol* 2000; 143: 728–732.
39. Brooklyn TN, Dunnill MG, Shetty A, Bowden JJ, Williams JD, Griffiths CE, et al. Infliximab for the treatment of pyoderma gangrenosum: a randomised, double blind, placebo controlled trial. *Gut* 2006; 55: 505–509.
40. Mittal S, Milner BJ, Vickers MA. Pyoderma gangrenosum as a cause of splenomegaly and association with a T-cell clone. *Clin Lab Haematol* 2005; 27: 402–404.
41. Brooklyn TN, Williams AM, Dunnill MG, Probert CS. T-cell receptor repertoire in pyoderma gangrenosum: evidence for clonal expansions and trafficking. *Br J Dermatol* 2007; 157: 960–966.
42. Patel, F., Fitzmaurice, S., Duong, C., He, Y., Fergus, J., Raychaudhuri, S.,Maverakis, E. Effective Strategies for the Management of Pyoderma Gangrenosum: A Comprehensive Review. *Acta Dermato Venereologica* 2015; 95:525–531.
43. Guenova E, Teske A, Fehrenbacher B, Hoerber S, Adamczyk A, Schaller M, et al. Interleukin 23 expression in pyoderma gangrenosum and targeted therapy with ustekinumab. *Arch Dermatol* 2011; 147: 1203–1205.
44. Fahmy M, Ramamoorthy S, Hata T, Sandborn WJ. Ustekinumab for peristomal pyoderma gangrenosum. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 794–795.
45. Binus AM, Qureshi AA, Li WW, Winterfield LS. Pyoderma gangrenosum : a retrospective review of patient characteristics, comorbidities and therapy in 103 patients .*Br J Dermatol* 2011;165:1244.
46. Xia FD, Liu K, Lockwood S, Butler D, Tsiaras WG, Joyce C, Mostaghimi A. Risk of developing pyoderma gangrenosum after procedures in patients with a known history of pyoderma gangrenosum-A retrospective analysis. *J Am Acad Dermatol.* 2018 ;78:310-314.
47. Tupikowska M., Kaniowski M., Gruber J. , Musioł M., Maj J.: Piodermia zgorzelinowa, trudności diagnostyczne i terapeutyczne - opis dwóch przypadków imitujących raka piersi. *Przegl. Dermatol.* 2016 T.103 nr 1:40-44.
48. Kutlubay Z, Tüzün Y, Wolf R. The Pathergy Test as a Diagnostic Tool. *Skinmed.* 2017 ;15:97-104.

49. Varol, A., Seifert, O., & Anderson, C. D. (2009). The skin pathergy test: innately useful? *Archives of Dermatologica Research*, 2009; 302: 155–168.
50. Rolstad BS, Erwin-Toth PL Peristomal skin complications: prevention and management. *Ostomy WoundManage.* 2004;50:68–77.
51. Xian-rui W and Bo S. Diagnosis and management of parastomal pyoderma gangrenosum. *Gastroenterol Rep.* 2013; 1: 1–8.
52. Powell FC, Hackett BC, Wallach D. Pyoderma gangrenosum. In: Fitzpatrick's *Dermatology in General Medicine*, 8th ed, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, et al (Eds), McGraw-Hill Companies, Inc., New York 2012. Vol 1: 371.
53. Żychowska M., Woźniak Z., Maj J. Vegetative pyoderma gangrenosum - a diagnostic challenge. 15th EADV Spring Symposium. Budva, Montenegro, 3-6 May 2018. Abstracts on USB; Lugano : EADV Headquarters, 2018; poz.P197 [2 s.] ISBN 978-88-942552-2-5.
54. Reich A., Maj J., Ciśło M., Szepietowski J.C.: Periungual lesions in pyoderma gangrenosum. *Clin.Exp.Dermatol.* 2009;.34 : 81-84.
55. Ruocco E, Sangiuliano S, Gravina AG, et al. Pyoderma gangrenosum: an updated review. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2009; 23:1008.
56. Bennett ML, Jackson JM, Jorizzo JL, et al. Pyoderma gangrenosum. A comparison of typical and atypical forms with an emphasis on time to remission. Case review of 86 patients from 2 institutions. *Medicine.* 2000; 79:37.
57. Toh JWT, Young CJ, Rickard MJFX, Keshava A, Stewart P, Whiteley Peristomal pyoderma gangrenosum: 12-year experience in a single tertiary referral centre. *IANZ J Surg.* 2018;88:693-697.
58. Brown TS, Marshall GS, Callen JP. Cavitating pulmonary infiltrate in an adolescent with pyoderma gangrenosum: a rarely recognized extracutaneous manifestation of a neutrophilic dermatosis. *J Am Acad Dermatol* 2000; 43:108.
59. Scherlinger M, Guillet S, Doutre MS, et al. Pyoderma gangrenosum with extensive pulmonary involvement. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017; 31:214.
60. McElnea E, Stephenson K, Fulcher T. Pyoderma gangrenosum affecting the eye, orbit, and adnexa. A review. *Orbit.* 2018; 37: 26-31.

61. Tolkachjov SN, Fahy AS, Wetter DA, et al. Postoperative pyoderma gangrenosum (PG): the Mayo Clinic experience of 20 years from 1994 through 2014. *J Am Acad Dermatol* 2015; 73:615.
62. Tolkachjov SN, Fahy AS, Cerci FB, Wetter DA. Postoperative Pyoderma Gangrenosum: A Clinical Review of Published Cases. *Mayo Clin Proc.*2016;91:1267-79.
63. Ashchyan HJ, Butler DC, Nelson CA, et al. The Association of Age With Clinical Presentation and Comorbidities of Pyoderma Gangrenosum. *JAMA Dermatol* 2018; 154:409.
64. Gillard M, Anuset D, Maillard H, Senet P, Cuny JF, Mahe E. Comorbidities of pyoderma gangrenosum: a retrospective multicentric analysis of 126 patients. *Br J Dermatol.* 2018; 179
65. Kridin K, Cohen AD, Amber KT. Underlying Systemic Diseases in Pyoderma Gangrenosum: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Clin Dermatol.* 2018;19:479-487.
66. Lebrun D, Robbins A, Hentzien M, Toquet S. Two case reports of pyoderma gangrenosum and systemic lupus erythematosus: A rare but nonfortuitous association? *Medicine.* 2018;97:34.
67. Quinn N, MacMahon J, Irvine AD, Lowry C. Sweet syndrome revealing systemic lupus erythematosus. *Ir Med J.* 2015;108:59-60.
68. Kaffenberger BH, Hinton A, Krishna SG. The impact of underlying disease state on outcomes in patients with pyoderma gangrenosum: A national survey. *J Am Acad Dermatol.* 2018 ;79:659-663.
69. Yan-Yun Jiang, Ji Li, Yue Li, Qiang Wang, Comparison of Clinical Features between Pyoderma Gangrenosum Concomitant by Inflammatory Bowel Disease and Idiopathic Pyoderma Gangrenosum. *Chin Med J* 2017 20; 130: 2674–2679.
70. Binus AM, Qureshi AA, Li VW, Winterfield LS. Pyoderma gangrenosum: A retrospective review of patient characteristics, comorbidities and therapy in 103 patients. *Br J Dermatol.* 2011;165:1244–50.

71. Vacas AS, Torre AC, Bollea-Garlatti ML et al. Pyoderma gangrenosum: clinical characteristics, associated diseases, and responses to treatment in a retrospective cohort study of 31 patients. *Int J Dermatol* . 2017;56:386–391.
72. Chae HS, Han SM, Lee HN, Jeon HJ Pyoderma Gangrenosum of the Preauricular Area with Ulcerative Colitis: A Case Report and Review. *JAudiol Otol*. 2018 ;22:248-252.
73. Beber A.A.C., Knob C.F., Karen R., Shons A.R., Pyoderma gangrenosum associated with rheumatoid arthritis: a case report. *RBR* 2014;54:322-325.
74. Carlos A. Charles, MD; Tracy L. Bialy, MD, MPH; Anna F. Falabella, Poor Prognosis of Arthritis-Associated Pyoderma Gangrenosum. *Arch Dermatol*. 2004;140:861-864.
75. Pacifico F., Di Giacomo A., Vergineo P.P. Pyoderma gangrenosum and Rheumatoid Arthritis With Massive Necrotic Ulcer of the Right Foot. *WOUNDS* 2009;21:37-41.
76. Callen JP, Jackson JM. Pyoderma gangrenosum: an update. *Rheum Dis Clin N Am*. 2007;33:787-802.
77. Vacas A.S., Bollea-Garlatti A.L., Torre A.C., Galimberti R.L. Bullous pyoderma gangrenosum as a predictor of hematological malignancies. *An Bras Dermatol*. 2018; 93:133–134.
78. Wolska K, Michalska-Jakubus M, Pucula J, Chodorowska G, Dzida G, Mosiewicz J, Prystupa A, et al. Bullous pyoderma gangrenosum associated with pancytopenia of unknown origin. *Postepy Dermatol Alergol*. 2014;31:272–276.
79. Su WP, Davis MDP, Weening RH, et al. Pyoderma gangrenosum: clinicopathologic correlation and proposed diagnostic criteria. *Int J Dermatol*. 2004;43:790–800.
80. Sakiyama M, Kobayashi T, Nagata Y, et al. Bullous pyoderma gangrenosum: a case report and review of the published work. *J Dermatol*. 2012;39:1–6.
81. Velasco-Tamariz V, Carreño-Tarragona G, Tous-Romero F. Dramatic resolution of disseminated pyoderma gangrenosum associated with monoclonal gammopathy after therapy with bortezomib and dexamethasone. *Int Wound J*. 2017;14:1382-1384.
82. Ghazal PA, Herberger K, Schaller J, et al. Associated factors and comorbidities in patients with pyoderma gangrenosum in Germany: a retrospective multicentric analysis in 259 patients. *Orphanet J Rar Dis*. 2013;8:136–44.

83. Wu, B. C., Patel, E. D., Ortega-Loayza, A. G. Drug-induced pyoderma gangrenosum: a model to understand the pathogenesis of pyoderma gangrenosum. *B J Dermatol.* 2017 ;177: 72–83.
84. Bressolle F, Bres J, Faure-Jeantis A. et al. Absolute bioavailability, rate of absorption, and dose proportionality of sulpiride in humans. *J Pharm Sci* 1992;81:26–32.
85. Wang JY, French LE, Shear NH, Amiri A, Alavi A. Drug-Induced Pyoderma Gangrenosum: A Review. *Am J Clin Dermatol.* 2018 ;19:67-77 .
86. Su WP, Davis MD, Weenig RH, et al. Pyoderma gangrenosum: clinicopathologic correlation and proposed diagnostic criteria. *Int J Dermatol* 2004; 43:790.
87. Maverakis E., ; Ma Ch., ; Shinkai K., ; et al. Diagnostic Criteria of Ulcerative Pyoderma Gangrenosum A Delphi Consensus of International Experts. *JAMA Dermatology* 2018; 154: 461-466.
88. Jockenhöfer F, Wollina U, Salva KA, Benson S, Dissemond J. The PARACELSUS score: a novel diagnostic tool for pyoderma gangrenosum. *Br J Dermatol.* 2018 ;2
89. Weedon D. The vasculopathic reaction pattern. In: *Weedon's Skin Pathology*, 3rd ed, Elsevier Limited, 2010:195.
90. Weenig RH, Davis MD, Dahl PR, Su WP. Skin ulcers misdiagnosed as pyoderma gangrenosum. *N Engl J Med.* 2002;347:1412.
91. Fortems Y, De Witte P, Jansegers E Diagnostic pitfalls in the differentiation between pyoderma gangrenosum and necrotizing fasciitis. *Acta Orthop Belg.* 2018;84:17-24.
92. Hilton R., Berryman J., and Handoyo K. Pyoderma Gangrenosum Masquerading as Necrotizing Fasciitis: Stepping Away from Cognitive Shortcuts *Eur J Case Rep Intern Med.* 2017; 000648.
93. Barańska-Rybak W, Kakol M, Naesstrom M, et al. A retrospective study of 12 cases of pyoderma gangrenosum: why we should avoid surgical intervention and what therapy to apply. *Am Surg* 2011; 77:1644.
94. Ahn C, Negus D, Huang W. Pyoderma gangrenosum: a review of pathogenesis and treatment. *Expert Rev Clin Immunol.* 2018 ;14:225-233.
95. Marzano AV, Trevisan V, Lazzari R, et al. Topical tacrolimus for the treatment of localized, idiopathic, newly diagnosed pyoderma gangrenosum. *J Derm Treat.* 2010; 3:140–143.

96. Marzano AV, Trevisan V, Lazzari R, et al. Pyodermagangrenosum: Study of 21 patients and proposal of a 'clinicotherapeutic' classification. *JDerm Treat.* 2011;22:254–260.
97. Thomas KS, Ormerod AD, Craig FE, et al. Clinical outcomes and response of patients applying topical therapy for pyoderma gangrenosum: A prospective cohort study. *J Am Acad Dermatol.* 2016;75:940–949.
98. Herberger, K., Dissemond, J., Brüggelstrat, S., Sorbe, C., & Augustin, M. Biologics and immunoglobulins in the treatment of pyoderma gangrenosum- analysis of 52 patients. *JDDG.* 2019; 127:32-41.
99. Dębicka M.M. Profil interleukin prozapalnych (IL-1, IL-17, IL-23, IL-36) w krostkowicy dłoni i stóp. Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych. Promotor : Maj.J. Katedra I Klinika Dermatologii, Wenerologii I Alergologii. Wrocław 2017.
100. Akdis M., AAb A., Altunbulaki C. Interleukins (from IL-1 to IL-38), interferons, transforming growth factor β , and TNF- α : Receptors, functions, and roles in diseases. *October 2016;138: 984–1010*
101. Deptuła W., Tokarz-Deptuła B., Stosik M: *Immunologia dla biologów.* US Szczecin. Szczecin 2008.
102. Tokarz-Deptuła B., Miller T., Deptuła W. Cytokiny z rodziny interleukiny 1 *Post. Microbiol.* 2011; 50: 217–221.
103. Catalan-Dibene J., McIntyre L.L., Zlotnik A.J. Interleukin 30 to Interleukin 40. *Interferon Cytokine Res.* 2018 ;38:423-439.
104. Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014; 4: 6 .

105. Kaminiarczyk-Pyzalka D. Czynniki prozapalne (TNF-alfa., Il- 1 beta, Il-6) w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów. Rozprawa doktorska 2013 r.
106. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004; 113: 1271–1276
107. Liuzzi JP, Lichten LA, Rivera S, Blanchard RK, Aydemir TB, Knutson MD, Ganz T, Cousins RJ 2005. Interleukin-6 regulates the zinc transporter Zip14 in liver and contributes to the hypozincemia of the acute-phase response. *Proc Natl Acad Sci* 102: 6843–6848.
108. Hashizume M, Hayakawa N, Mihara M 2008. IL-6 trans-signalling directly induces RANKL on fibroblast-like synovial cells and is involved in RANKL induction by TNF- α and IL-17. *Rheumatology* 47: 1635–1640.
109. Tanaka T., Kishimoto T. Targeting Interleukin-6: All the Way to Treat Autoimmune and Inflammatory Diseases *Int J BiolSci* 2012; 8:1227-1236.
110. Gilowska I. CXCL8 (interleukina 8)-główny mediator stanu zapalnego w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc? *Postepy Hig Med. Dosw.* 2014; 68: 842-850.
111. Nawrocka M. Ocena stężenia wybranych interleukin i parametrów funkcji nerek u chorych z zespołem metabolicznym. Rozprawa doktorska. Promotor: prof. hab. Danuta Pupek-Musialik. Uniwersytet medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Wydział Lekarski I.
112. Jakóbisiak M.: *Immunologia*. Wyd Nauk PWN 1995, 280–284.
113. Hu DE, Hori Y, Fan TP Interleukin-8 stimulates angiogenesis in rats. *Inflammation*. 1993 ;17:135-43.
114. Li A, Dubey S, Varney ML, Dave BJ, Singh RK. IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *J Immunol*. 2003 ; 170:3369-76.

115. Todorović-Raković N, Milovanović J. Interleukin-8 in breast cancer progression. *J Interferon Cytokine Res.* 2013;33:563-70.
116. Strackowski M., Kowalska I., Nikolajuk A. iwsp.: Plasma interleukin 8 concentrations in obese subjects with impaired glucose tolerance. *Cardiovasc Diabetol* 2003; 2: 5.
117. Rouvier E, Luciani MF, Mattei MG, Denizot F, Golstein P. CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene. *J Immunol* 1993;150:5445–56.
118. Xinyang S.Xiao H., Xiaoxia L., Youcun Q.The roles and functional mechanisms of interleukin-17 family cytokines in mucosal immunity. *Cell Mol Immunol.* 2016; 13: 418–431.
119. Brembilla N., Senra L. , and Boehncke W The IL-17 Family of Cytokines in Psoriasis: IL-17A and Beyond. *Front Immunol.* 2018; 9: 1682.
120. Lubberts E. The Th17 cytokines and arthritis. *Semin Immunopathol* 2010; 32:43-53
121. Varelias A, OrmerodKL Bunting MD Acute graft-versus-host disease is regulated by an IL-17-sensitive microbiome. *Blood.* 2017 13;129:2172-2185.
122. Yang B. Kang H. The Role of Interleukin 17 in Tumour Proliferation, Angiogenesis, and Metastasis. *MediatorsInflamm.* 2014; 623759.
123. Duvallet E, Semerano L, Assier E, Falgarone G, Boissier MC Interleukin-23: a key cytokine in inflammatory diseases. *Ann Med.* 2011;43:503-11.
124. Li Y, Yu X, Ma Y, Hua S. IL-23 and dendritic cells: What are the roles of their mutual attachment in immune response and immunotherapy? *Cytokine.* 2019;120:78-84.

125. Yanxi L., Xiaorong H., Xin G., et al. Promoting effects of IL-23 on myocardial ischemia and reperfusion are associated with increased expression of IL-17A and upregulation of the JAK2-STAT3 signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2017; 16: 9309–9316.
126. Idźkowska E., Bossowski A., Noiszewska K. Analiza stężenia IL-17 i IL-23 w dynamice chorób autoimmunizacyjnych tarczycy u młodocianych. *Endokrynol. Ped.* 2012;3:17-26.
127. Ono S., Kabashima K. Novel insights into the role of immune cells in skin and inducible skin-associated lymphoid tissue (iSALT). *J Int.* 2015; 24: 170–179.
128. Streilein J. W. Skin-associated lymphoid tissue. *Immunol Ser.* 1989;46:73-96.
129. Honda T, Kabashima K. Novel concept of iSALT (inducible skin-associated lymphoid tissue) in the elicitation of allergic contact dermatitis. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2016;92:20-8.
130. Gerard AJ, Feldman SR, Strowd L. Quality of Life of Patients With Pyoderma Gangrenosum and Hidradenitis Suppurativa. *J Cutan Med Surg.* 2015;19: 391-6.
131. Haag, Carter K. BS; et al. Pyoderma gangrenosum misdiagnosis resulting in amputation. A review. *J Trauma Acute Care Surg.* 2019;86:307-313.
132. Brooklyn TN, Dunnill MG, Shetty A, Bowden JJ, et al. Infliximab for the treatment of pyoderma gangrenosum: a randomised, double blind, placebo controlled trial. *Gut.* 2006;55:505-509.
133. Teich N., Klugmann T. Rapid improvement of refractory pyoderma gangrenosum with infliximab gel in a patient with ulcerative colitis. *JCC* 2014;8: 85–86.
134. Magdoud O, Souissi A, Chelly I, Haouet S, Mokni M. Pyoderma gangrenosum and systemic lupus erythematosus: A rare association. *Rev Med Interne.* 2020 ;41:54-57.

135. Owczarczyk-Saczonek A, Zdanowska N, Wańczyk-Dręczewska B, et al. Pyoderma gangrenosum-like lesions provoked by botulinum injections *Dermatol Ther.* 2020 19:13227.
136. Roy, C., Adam, J.P., Morin, F., Lemieux-Branchard, E., Doucet, et al. Azacitidine-induced pyoderma gangrenosum at injection sites in a patient with myelodysplastic syndrome. *CurrentOncology*2018; 25:103-105.
137. Sobieszcańska, M., Tubes., & Kura, I. Pyoderma gangrenosum-like skin changes after subcutaneous administration of low molecular weight heparin. *Human,Vaccines&Immunotherapy*, 10; 968-969.
138. Miron A, Giulea C, Tudose I, Petrache D, Giurcaneanu C. Pyoderma gangrenosum, rare parietal complication after colorectalsurgery. *Chirurgia* 2014;109:248-53.
139. Hofmann A, Simon JC, Josten C. Complex treatment of pyoderma gangrenosum after minor trauma and primary surgical intervention with suspected necrotizing fasciitis. *Unfallchirurg.* 2020 ;123:68-75.
140. De Menezes D, Yusuf E, BorensO. Pyoderma gangrenosum after minor trauma in a pregnant woman, mistaken for necrotizing fasciitis: report of a case and literaturere view. *Surg Infect .* 2014;15:441-4.
141. Obradović TM, Jovanović M, Popović A. Pyoderma gangrenosum in burned patient-case report. *Med Pregl.* 2015; 68:133-6.
142. West C.C, Morritt A.N., Ralston D.R. Pyoderma gangrenosum in burns: A report of 3 cases and review of the literature. *Burns* 2010;36:56-59.
143. Thomsen SF, Sorensen LT. Smoking and skin disease. *Skin Therapy Lett.* 2010;15:4-7.
144. Wolf R, Orion E, Matz H, Maitra S, Rowland-Payne C. Smoking can be good for you. *Cosmet Dermatol.* 2004; 3:107-11.
145. Patel GK, Rhodes JR, Evans B, Holt PJ . Successful treatment of pyoderma gangrenosum with topical 0.5% nicotine cream. *JDermatolog Treat.* 2004;15:122-5.
146. Ott K., Takses A. , Obermeier F. et al. Smoking increases the risk of extraintestinal manifestations in Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 12269–12276.

147. Cosnes J, Carbonnel F, Carrat F, Beaugerie L, Cattan S, Gendre J. Effects of current and former cigarette smoking on the clinical course of Crohn's disease. *AlimentPharmacolTher.* 1999;13:1403–1411.
148. Louis E, Michel V, Hugot JP, Reenaers C, Fontaine F, Delforge M, El Yafi F, Colombel JF, Belaiche J. Early development of stricturing or penetrating pattern in Crohn's disease is influenced by disease location, number of flares, and smoking but not by NOD2/CARD15 genotype. *Gut.* 2003;52:552–557.
149. Picco MF, Bayless TM. Tobacco consumption and disease duration are associated with fistulizing and stricturing behaviors in the first 8 years of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 2003;98:363–368.
150. Lindberg E, Järnerot G, Huitfeldt B. Smoking in Crohn's disease: effect on localisation and clinical course. *Gut.* 1992;33:779–782.
151. Kontny E, Maśliński W. Interleukina 6 – znaczenie biologiczne i rola w patogenezie reumatoidalnego zapalenia stawów. *Reumatologia* 2009; 47, 1: 24-33.
152. Mistry P, Carmona-Rivera C, Ombrello AK. Dysregulated neutrophil responses and neutrophil extracellular trap formation and degradation in PAPA syndrome. *Ann RheumDis.* 2018 ;77:1825-1833.
153. Omenetti A, Carta S, Caorsi R, et al. Disease activity accounts for long-term efficacy of IL-1 blockers in pyogenic sterile arthritis pyoderma gangrenosum and severe acne syndrome. *Rheumatology* 2016;55:1325-35.
154. Aizu M, Mizushima I, Nakazaki S, et al. Changes in serum interleukin-6 levels as possible predictor of efficacy of tocilizumab treatment in rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol.* 2018 ;28:592-598.
155. Guo, Y.-N. A child with recurrent pyogenic arthritis with the PSTPIP1 mutation. *SAGE Open Medical Case Reports* 2020 ; 28:8
156. Lee WS, Choi YJ, Yoo WH. Use of tocilizumab in a patient with pyoderma gangrenosum and rheumatoid arthritis. *J EurAcad Dermatol Venereol.* 2017 ;31:75-77.

157. Martinez-Fierro ML, Garza-Veloz I, Rocha-Pizaña MR. Serum cytokine, chemokine, and growth factor profiles and their modulation in inflammatory bowel disease. *Medicine* 2019; 98: 17208.
158. Giudice M, Gangestad S.W. Rethinking IL-6 and CRP: Why they are more than inflammatory biomarkers, and why it matters. *Brain Behav Immun* 2018;70:61-75.
159. Black S., Kushner I., Samols D. C-reactive protein. *J. Biol. Chem.*, 2004;279 : 48487-48490.
160. Sperry JL, Friese RS, Frankel HL, West MAJ. Trauma. Male gender is associated with excessive IL-6 expression following severe injury. *J Trauma* 2008 ;64:572-578
161. Pedersen B., Skinhoj S.,. Impaired production of proinflammatory cytokines in response to lipopolysaccharide (LPS) stimulation in elderly humans. *Clin Exp Immunol* 1999;118: 235–241
162. Elenkov IJ, Iezzoni DG, Daly A, Harris AG, et al. Cytokine dysregulation, inflammation and well-being. *Neuroimmunomodulation* 2005;12: 255–269.
163. Huikuri H, Pikkujamsa S, Airaksinen K, Ikaheimo M, Rantala A, Kauma H, Lilja M, Kesaniemi Y. Sex-related differences in autonomic modulation of heart rate in middle-aged subjects. *Circulation* 1996;94: 122–125.
164. Wahle M, Neumann RP, Moritz F, et al. β 2-Adrenergic receptors mediate the differential effects of catecholamines on cytokine production of PBMC. *J Interferon Cytokine Res* 2005;25: 384–394.
165. O'Connor MF, Motivala SJ, Valladares EM. Sex differences in monocyte expression of IL-6: role of autonomic mechanisms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007 ;293:145-151.

166. Baggiolini M, Dewald B, and Moser B Interleukin-8 and related chemotactic cytokines-CXC and CC chemokines. *Adv Immunol* 1994; 55: 97–19.
167. Norgauer J, Metzner B, and Schraufstatter I Expression and growth-promoting function of the IL-8 receptor beta in human melanoma cells. *J Immunol* 1996;156: 1132–1137.
168. Anttila HSI, Reitamo S, Erkkö P, Interleukin-8 immunoreactivity in the skin of healthy subjects and patients with palmoplantar pustulosis and psoriasis. *J Invest Dermatol* 1992;98: 96–101.
169. Schmidt E . Elevated levels of interleukin-8 in blister fluid of bullous pemphigoid compared with suction blisters of healthy control subjects. *J Am Acad Dermatol* 1996;34: 310–312.
170. Bornscheuer E, Schröder JM, Christophers E, and Sticherling M Interleukin-8 immunoreactivity in malignant tumours of the skin. *Acta Derm Venereol* 1996 ;76: 210–213.
171. Marie C, Roman-Roman S, and Rawadi G. Involvement of mitogen-activated protein kinase pathways in interleukin-8 production by human monocytes and polymorphonuclear cells stimulated with lipopolysaccharide or *Mycoplasma fermentans* membrane lipoproteins. *Infect Immun* 1999;67: 688–693.
172. Nakajima N., Kozaru T., Fukumoto T. Peristomal pyoderma gangrenosum with high serum levels of interleukin-8. *J Dermatol.* 2018;45:297-298.
173. Marzano A.V., Ortega-Loayza A.G. Heath M. , Morse D. Mechanisms of Inflammation in Neutrophil-Mediated Skin Diseases *Front. Immunol.* 2019; 10:1059
174. Marzano AV, Ceccherini I, Gattorno M, Fanoni D, Caroli F, Rusmini M, et al. Association of pyoderma gangrenosum, acne, and suppurative hidradenitis (PASH) shares genetic and cytokine profiles with other autoinflammatory diseases. *Medicine.* 2014; 93:187.
175. Marzano AV, Damiani G, Ceccherini I, Berti E, Gattorno M, Cugno M. Autoinflammation in pyoderma gangrenosum and its syndromic form (pyoderma gangrenosum, acne and suppurative hidradenitis). *Br J Dermatol.* 2017; 176:1588–1598.

176. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303:1532-5.
177. Gupta AK, Hasler P, Holzgreve W, Gebhardt S, Hahn S. Induction of neutrophil extracellular DNA lattices by placental microparticles and IL-8 and their presence in preeclampsia. *Hum Immunol* 2005;66:1146-54.
178. Lee KH, Kronbichler A, Park DD, Park Y. Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: A comprehensive review. *Autoimmun Rev*. 2017 ;16:1160-1173.
179. Clark J.A., Peterson T.C. Cytokine production and aging: overproduction of IL-8 in elderly males in response to lipopolysaccharide. *Mech Ageing Dev* 1994;77:127-39.
180. Speeckaert R, Lambert J, Grine L, Van Gele M, et al.. The many faces of interleukin-17 in inflammatory skin diseases. *Br J Dermatol*. 2016;175:892-901.
181. Conti HR, Gaffen SL. IL-17-mediated immunity to the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*. *J Immunol* 2015; 195:780–88.
182. Witowski J, Ksiazek K, Jorres A. Interleukin-17: a mediator of inflammatory responses. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61 :567-579.
183. Katayama M, Ohmura K, Yukawa N et al. Neutrophils are essential as a source of IL-17 in the effector phase of arthritis. *PLoS ONE* 2013;8 :62231.
184. Al-Zifzaf MD, Mokbel AN et al., Interleukin 17 in Behcet's disease : relation with clinical picture and disease activity. *Egypt Rheumatol Rehabil* 2015;42:34-38.
185. Chi W., Zhu X, Yang P, Liu X, et al. Upregulated Il-23 and Il-17 in Behcet patients with active uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 3058-3064.
186. Moreno García M, Madrid González M, Prada Lobato JM. Secukinumab for pyoderma gangrenosum: A case report. *Med Clin*. 2019 Mar 15;152:246.

187. Wollina U, Schönlebe J, Fürll CP. Pyoderma gangrenosum induced by secukinumab-A late paradoxical drug reaction. *Dermatol Ther.* 2020;33:13161.
188. Jin, K., Matsuzaki, Y., Akasaka, E., Nakano, H., & Sawamura, D. Pyoderma gangrenosum triggered by switching from adalimumab to secukinumab. *JDA* 2019; 46: 108–109.
189. Kumar P, Natarajan K, Shanmugam N. High glucose driven expression of pro-inflammatory cytokine and chemokine genes in lymphocytes: molecular mechanisms of IL-17 family gene expression. *Cell Signal.* 2014 ; 26:528-39.
190. Hong J, Yang HR, Moon JS, Chang JY. Association of IL23R Variants With Crohn's Disease in Korean Children. *Front Pediatr.* 2019; 19:472.
191. Argollo MC, Allocca M, Furfaro F. Interleukin-23 Blockers: Born to be First-line Biologic Agents in Inflammatory Bowel Disease? *Curr Pharm Des.* 2019;25:25-31.
192. Vallerand IA, Hardin J. Ustekinumab for the treatment of recalcitrant pyoderma gangrenosum: A case report. *SAGE Open Med Case Rep.* 2019; 2:7
193. Greb JE, Gottlieb AB, Goldminz AM. High-dose ustekinumab for the treatment of severe, recalcitrant pyoderma gangrenosum. *Dermatol Ther* 2016; 29: 482–483.
194. Nieto D, Sendagorta E, Rueda JM, et al. Successful treatment with ustekinumab and vacuum-assisted closure therapy in recalcitrant myelodysplastic syndrome-associated pyoderma gangrenosum: case report and literature review. *Clin Exp Dermatol* 2018; 44: 116–119.
195. Goldminz AM, Botto NC, Gottlieb AB. Severely recalcitrant pyoderma gangrenosum successfully treated with ustekinumab. *J Am Acad Dermatol* 2012; 67: 237–238.
196. Pawlak K., Ziegler A., Rudzik R., et al. Ustekinumab in psoriasis treatment. *Farmacja współczesna.* 2018;11:159-163

197. Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, et al; CNTO 1275 Psoriasis Study Group. A human interleukin-12/23 monoclonal antibody for the treatment of psoriasis. *N Engl J Med.* 2007;356:580-592.
198. Toichi E, Torres G, McCormick TS, et al. An anti-IL-12p40 antibody down-regulates type 1 cytokines, chemokines, and IL-12/IL-23 in psoriasis. *J Immunol.* 2006;177:4917-4926.
199. Cosgarea I, Lovric Z, Korber A et al. Successful treatment of refractory pyoderma gangrenosum with ustekinumab only after excision of renal cell carcinoma. *Int. Wound J.* 2016; 13: 1041.
200. Low, Z. M., Mar, A. Treatment of severe recalcitrant pyoderma gangrenosum with ustekinumab. *Australasian Journal of Dermatology.* 2017; 59: 131–134.

11.ANEKS

Załącznik nr 1. Wzór informacji pisemnej o badaniu dla pacjentów.

Informacja dla pacjentów biorących udział w badaniu:

„Rola czynników środowiskowych i immunologicznych w patogenezie piodermii zgorzelinowej.”

Szanowni Państwo!

Niniejsza informacja wyjaśni Państwu cel badania, zasady jego przeprowadzania, spodziewane korzyści oraz ryzyko związane z udziałem w badaniu.

Merytoryczne przesłanki podjęcia badań:

Piodermia zgorzelinowa (ang. piodermia gangrenosum, PG) jest rzadką, przewlekłą chorobą zapalną, w przebiegu której na skórze pacjentów nagle powstają szybko powiększające się owrzodzenia. Zmiany powodują ból, niejednokrotnie stwarzają również problem pielęgnacyjny i terapeutyczny, a ponadto znacząco upośledzają jakość życia pacjentów. Nadal istnieją kontrowersje dotyczące etiopatogenezy i możliwych czynników wywołujących chorobę.

Cel pracy

Założeniem pracy jest wskazanie czynników środowiskowych, współistniejących schorzeń oraz czynników immunologicznych, które mogą wpływać na wystąpienie i przebieg piodermii zgorzelinowej.

Grupę badaną będą stanowili chorzy na piodermię zgorzelinową powyżej 18 r.ż.

Grupę kontrolną będą stanowiły osoby dorosłe, kobiety oraz mężczyźni powyżej 18 r.ż. (bez wywiadu istotnych schorzeń zapalnych i immunologicznych, nie przyjmująca żadnego leczenia)

Metody badania

1. Wywiad dotyczący przebiegu choroby, obecnych dolegliwości, schorzeń współistniejących, przyjmowanych leków, chorób przewlekłych w rodzinie, nałogów, wykonywanej pracy, dolegliwości ze strony układu: kostno-stawowego, pokarmowego, oddechowego, nerwowego, moczowo-płciowego
2. Badanie fizykalne, podczas którego :
-zostanie ocenione i zmierzone owrzodzenie/owrzodzenia występujące u osoby badanej
3. Następnie doświadczona pielęgniarka pobierze krew na czczo (w godzinach porannych)
-5 ml krwi do badań biochemicznych
-5ml krwi (EDTA) do badania immunologicznego w celu określenia stężeń interleukiny (IL) II-1 beta, II 6,II 8, II17, II-23,
Wymienione procedury wykonuje personel medyczny, ubezpieczony od odpowiedzialności cywilnej.

Spodziewane efekty:

Naukowe:

1. Poznanie przyczyn powstawania piodermii zgorzelinowej w tym znaczenia zjawiska patergii w wywoływaniu choroby oraz współistnienie PG z innymi chorobami.
2. Poznanie tła immunologicznego piodermii zgorzelinowej.
3. Potencjalne znacznie diagnostyczne czynników immunologicznych do rozpoznawania choroby.

Praktyczne:

1. Wykorzystanie interleukin II-6, II-8, II-17 i II-23 jako celu leków biologicznych.

Ryzyko badania:

Badanie nie niesie za sobą zwiększonego ryzyka uszczerbku na zdrowiu, gdyż wykonywane procedury są rutynowymi procedurami medycznymi i wykonywane są przez przeszkolony i doświadczony personel medyczny. Do możliwych powikłań po pobraniu krwi zalicza się: przedłużone krwawienie, omdlenie lub uczucie zamroczenia, krwiak w miejscu pobrania.

Prawa pacjenta

Udział w badaniu jest dobrowolny. Po zapoznaniu się z powyższą informacją podpisują Państwo dobrowolnie zgodę na świadomy udział w badaniu. W każdym etapie badania istnieje możliwość wycofania się z projektu z prawem do dalszego diagnozowania i leczenia w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu na tych samych zasadach.

Uzyskane od Państwa informacje nie będą udostępniane osobom trzecim, ale będą przetwarzane wyłącznie na potrzeby tego badania. Publikowanie wyników odbędzie się w sposób uniemożliwiający identyfikację danych personalnych uczestników badania (dane osobowe mają charakter poufny zgodnie z Ustawą z dn. 29.08.97r. o Ochronie Danych Osobowych Dz. Ust. nr. 133 poz. 883).

Uzyskane wyniki badań oraz ich analiza wraz z odpowiednim objaśnieniami będą Pacjentowi udostępnione.

Zgoda Komisji Bioetycznej

Otrzymano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym we Wrocławiu na przeprowadzenie niniejszego projektu. Badania wykonywane są w Katedrze i Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

Jeżeli mają Państwo jakiegokolwiek pytania, uwagi lub wątpliwości dotyczące projektu proszę o ich zgłaszanie do lekarza przeprowadzającego badanie.

Kierownik projektu: prof. dr hab.n.med. Joanna Maj

Lekarz przeprowadzający badanie: Klaudia Rubas

**INFORMACJA O SPOSOBIE
GROMADZENIA I PRZETWARZANIA DANYCH OSOBOWYCH**

Tytuł badania: **Rola czynników środowiskowych i immunologicznych w patogenezie piodermy zgorzelinowej**

Imię i nazwisko badacza: **Klaudia Rubas**

KLAUZULA INFORMACYJNA:

Zgodnie z art. 13 Rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 (Ogólne Rozporządzenie o Ochronie Danych osobowych – RODO) informuję, że:

1. Administratorem Pana/i danych osobowych jest Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 1 we Wrocławiu z siedzibą przy ul. Borowska 213
2. Administrator wyznaczył Inspektora Ochrony Danych- pan Andrzej Michalski, z którym można się kontaktować pod adresem e-mail iod@usk.wroc.pl , tel. 71 7331774
3. Pani/Pana dane osobowe przetwarzane będą w celu realizacji projektu badawczego j.w. W Klinice Dermatologii, Wenerologii i Alergologii ul. Chałubińskiego 1, Wrocław na podstawie art. 6 ust .1 lit. a ogólnego rozporządzenia o ochronie danych osobowych z dnia 27 kwietnia 2016 r.
4. Administrator nie udostępnia Pani/Pana danych osobowych żadnym odbiorcą z wyjątkiem gdy obowiązek taki wynika z przepisów prawa powszechnie obowiązującego lub umowy zawartej z Administratorem.
5. Administrator może powierzyć innemu podmiotowi, w drodze umowy zawartej na piśmie przetwarzanie Pani/Pana danych osobowych w imieniu administratora.
6. Dane osobowe będą przechowywane w czasie trwania badania oraz pełnego opracowania i wykorzystania jego wyników.
7. Ma Pani/Pan prawo do żądania:
 - dostępu do treści swoich danych osobowych,
 - sprostowania swoich danych osobowych,
 - usunięcia swoich danych osobowych,
 - ograniczenia ich przetwarzania,
 - wniesienia sprzeciwu wobec przetwarzania.
8. Posiada Pani/Pan prawo wniesienia skargi do Prezesa Urzędu Ochrony Danych Osobowych, w przypadku podejrzenia, że dane osobowe są przetwarzane z naruszeniem prawa.
9. Cofnięcie zgody na przetwarzanie Pani/Pana danych osobowych pozostanie bez wpływu na zgodność z prawem przetwarzania tych danych, którego dokonano na podstawie zgody przed jej cofnięciem.

10. Podanie danych osobowych jest dobrowolne.

11. Decyzje nie będą podejmowane w sposób zautomatyzowany, nie będzie Pani/Pan podlegała/ł profilowaniu.

Załącznik nr 3. Wzór zgody na udział w badaniu.

OŚWIADCZENIE BADANEGO

-zgoda na udział w badaniach

Imię i nazwisko osoby

badanej:.....

Wieklat

Adres

.....
.....
.....

Temat badań:

Rola czynników środowiskowych i immunologicznych w patogenezie piodermii zgorzelinowej.

Niniejszym oświadczam, że zostałem/am szczegółowo poinformowany/na o sposobie przeprowadzenia badań i moim w nich udziale. Rozumiem na czym polegają badania i do czego potrzebna jest moja zgoda.

Zostałem poinformowany/na, że mogę odmówić uczestnictwa w badaniach w trakcie trwania realizacji projektu badawczego.

Wyrażam świadomą zgodę na uczestnictwo w badaniach.

.....

Podpis badacza

Wrocław, data

.....

Podpis badanego

Załącznik nr 4 Wzór ankiety przeprowadzanej z pacjentami z PG

Imię i nazwisko:

Nr historii choroby:

Pesel:

Wiek:

Data początku choroby:

Ile razy pacjent był/była hospitalizowana z powodu PG:

Dotychczasowe leczenie-tak/nie:

Czy pobrano wycinek z owrzodzenia:

Lokalizacja początkowa owrzodzenia:

Lokalizacja obecna:

Jaki charakter miał wykwit pierwotny (opis):

Jak wygląda owrzodzenie obecnie (opis) w tym dokładna ilość owrzodzeń :

Jak szybko zmiana się powiększała:

Rozmiar zmiany przy przyjęciu do szpitala i łączna powierzchnia owrzodzenia/owrzodzeń:

Dolegliwości subiektywne (świąd, ból, inne):

Czy przed pojawieniem się zmiany wystąpił uraz ? tak/nie / nie pamięta:

Jeśli uraz wystąpił to jaki (np. ukucie , uderzenie):

Choroby współistniejące:

Zażywane aktualnie leki:

Występowanie w rodzie PG:

Inne choroby dermatologiczne w rodzinie :

Nalogi?

Papierosy:

Alkohol:

Zawód wykonywany: