

Received: 2004.04.07  
Accepted: 2004.05.27  
Published: 2004.07.05

## Rola polimorfizmu genów kodujących cytokiny w transplantacji narządów i komórek hematopoetycznych

### Cytokine gene polymorphisms in organ and haematopoietic stem cell transplantation

Lidia Karabon

Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych z Krajowym Bankiem Dawców Szpiku/Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

#### Streszczenie

Podstawą rozwoju badań nad polimorfizmem genów kodujących cytokiny była obserwacja, że istnieją różnice w poziomie cytokin uwalnianych w hodowli komórek krwi obwodowej pochodzącej od zdrowych dawców pod wpływem stymulacji mitogenem. Różnice te nie były związane z czasem badania i każda cytokina była regulowana niezależnie. Wskazywało to na genetyczne predyspozycje do zróżnicowanego wytwarzania cytokin [62]. Rozwój biologii molekularnej pozwolił na odkrycie wielu miejsc polimorficznych w genach kodujących cytokiny. Stwierdzono występowanie polimorfizmów mikrosatelitarnych (różna liczba powtórzeń krótkich, najczęściej dwunukleotydowych fragmentów [99]), lub obecność polimorfizmów SNP (single nucleotide polymorphism), polegających na wymianie pojedynczej zasady [42,123]. Potwierdzono hipotezę o genetycznej predyspozycji do zróżnicowanego wytwarzania cytokin zarówno na poziomie białka, jak i na poziomie transkryptów [96,110,112]. Wykazano związek pomiędzy polimorfizmem a podatnością na choroby autoimmunologiczne [42,96,130], na procesy zapalne [110] i inne reakcje immunologiczne. Transplantacja narządów unaczynionych oraz przeszczepienie komórek hematopoetycznych są procedurami, w których zjawiska immunologiczne odgrywają zasadniczą rolę [56,75]. Przypuszczano, że polimorfizm genów kodujących cytokiny będzie wpływał na los pacjentów po transplantacji. Badano zależności pomiędzy polimorfizmem genów kodujących cytokiny, a występowaniem powikłań po przeszczepie narządów unaczynionych, z uwzględnieniem ostrego i przewlekłego odrzucania przeszczepionego narządu. Stwierdzono, że pacjenci posiadający genotyp związany z dużym wytwarzaniem TNF- $\alpha$  i małym IL-10 są bardziej narażeni na ostre odrzucenie przeszczepu serca [121]. W przypadku przeszczepu nerki zarówno genotyp TNF- $\alpha$ , jak i IL-10 odpowiedzialny za wytwarzanie dużych ilości białka jest związany z większym ryzykiem ostrego odrzucenia przeszczepianego narządu [106]. Ponadto wykazano, że u biorców wytwarzających znaczne ilości IFN- $\gamma$  i małe IL-10 występuje zwiększone ryzyko przewlekłego odrzucania przeszczepu nerki [5]. Genotyp TGF- $\beta$  odpowiedzialny za wytwarzanie dużych ilości tej cytokiny jest związany ze zwiększoną częstością przewlekłego odrzucenia przeszczepu płuc, nerki [7] i serca [59].

Opisano wpływ polimorfizmu genów kodujących cytokiny na występowanie powikłań po przeszczepieniu komórek hematopoetycznych (HSCT). Wykazano, że polimorfizm genów: TNFA (-308) i TNFB (+1069) [15], IL-10 (-1082, -819, -592), oraz IL-6 (-174) u biorcy przeszczepu ma związek z wrażliwością na toksyczność związaną z uwarunkowaniem przeszczepu [68]. Choroba przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD) to najczęściej pojawiające się powikłanie po HSCT, którego rozwój i przebieg zależy od konstelacji uwalnianych cytokin [23,41]. Stwierdzono, że polimorfizm mikrosatelitarny TNFd, IL-10<sup>-1064</sup> [20] i IFN- $\gamma$  (powtórzenia CA) [19] oraz polimorfizm SNP genów kodujących: IL-10 w pozycji -1082, IL-6 w pozycji -174 u biorcy, mają wpływ na wystąpienie ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi [68]. Nie stwierdzono wpływu polimorfizmu TNFA w pozycji -308 na pojawienie się tego powikłania [15]. Występowanie



miejsz polimorficznych w genach kodujących TNF (TNFd3, TNFA (-308), TNFA (-238), TNFB (-252)) oraz IFN- $\gamma$  (+874) u dawców nie ma wpływu na ujawnianie się aGvHD [109]. W literaturze pojawiły się prace dotyczące czynników ryzyka przewlekłej postaci choroby GvH (cGvHD). Wykazano, że wśród czynników zwiększających ryzyko cGvHD znaczenie ma polimorfizm genu kodującego IL-6 dawcy i biorcy [19] oraz genu kodującego IFN- $\gamma$  [131] i IL-10 biorcy [109].

**słowa kluczowe:** polimorfizm genów kodujących cytokiny • przeszczep narządów unaczynionych • przeszczep komórek hematopoetycznych • ostre i przewlekłe odrzucanie przeszczepu narządowego • ostra i przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi

## Summary

The development of molecular biological techniques during the last decade has led to the recognition of a series of polymorphic sites in the regulatory regions of cytokine-encoding genes. Different alleles are associated with the binding of transcriptional factors and various degrees of cytokine production [42,110,123]. Therefore each person has an individual profile of high and low cytokine responses. Some individuals are more susceptible to inflammatory conditions [110] and the development of an immune response after transplantation [62]. It has been documented that in heart transplantation high TNF- $\alpha$ /low IL-10 producers had high levels of graft rejection [121], while in renal transplants high TNF- $\alpha$ /high IL-10 producers were characterized with worse prognosis [106]. The polymorphic features of genes encoding cytokines also associate with the outcome of bone marrow transplantation [28]. It was shown that recipient *TNFD*, *IFN- $\gamma$*  (CA) and *IL-10*<sup>-1064</sup> microsatellite polymorphisms [19,20] and *IL-10* (-1082) and *IL-6* (-174) SNP polymorphisms are associated with acute GvHD manifestation [19,68,109]. No relation was found between *TNFA* (-308) and aGvHD [15]. Recently, the influence of donor polymorphism within the *IL-10* and *IL-6* genes was documented [68,109]. Polymorphism of the *TNFD*, *TNFA* (-308), *TNFA* (-238), *TNFB* (-252), and *IFN- $\gamma$*  (+874) genes in donors were not related to this complication [131]. In addition, donor and recipient *IL-6* gene polymorphism and recipient *IFN- $\gamma$*  and IL-10 alleles were described as risk factors of cGvHD [109,131].

**key words:** cytokine gene polymorphism • organ transplantation • haematopoietic stem cell transplantation • acute and chronic graft rejection • acute and chronic graft versus host disease

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_58/5783.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/5783.pdf)

**Word count:** 7026

**Tables:** –

**Figures:** –

**References:** 131

**Source of support:** Praca częściowo realizowana w ramach grantu KBN nr 6P05B 056 20.

**Author's address:** dr Lidia Karabon, Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowych/Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda, ul. R. Weigla 12, 53-114 Wrocław, e-mail: lkarabon@wp.pl

**Wykaz skrótów:** aGvHD – ostra postać choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (acute graft versus host disease); cGvHD – przewlekła postać choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (chronic graft versus host disease); CTL – cytotoksyczne limfocyty T (cytotoxic T lymphocytes); GvHD – choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (graft versus host disease); GvHR – reakcja przeszczep przeciwko gospodarzowi (graft versus host reaction); HLA – główny układ zgodności tkankowej człowieka (human leukocyte antigens); HSCT – przeszczep komórek hematopoetycznych (haematopoietic stem cell transplantation); IFN – interferon; IL – interleukina (interleukin); LGL – duże ziarniste limfocyty (large granular lymphocytes); LPS – lipopolisacharyd (lipopolisaccharide); NK – naturalna komórka cytotoksyczna (natural killer cell); PBMC – komórki jednojądrowe z krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cells); SNP – polimorfizm dotyczący wymiany pojedynczego nukleotydu (single nucleotide polymorphism); TCR – receptor limfocytów T (T cell receptor)

## CYTOKINY

Cytokiny są to niskocząsteczkowe białka, często glikoproteiny wytwarzane przez różne komórki, należące do układu odpornościowego. Są odpowiedzialne za wzajemne oddziaływania międzykomórkowe, regulują procesy aktywacji, proliferacji, różnicowania poszczególnych subpopulacji komórkowych. Cytokiny wpływają na wszystkie fazy odpowiedzi immunologicznej regulując odpowiedź komórkową i humoralną organizmu, mogą też brać udział w patogenezie niektórych chorób.

Proteiny te wpływają na procesy dotyczące całego organizmu, gdyż uwalniane do krwi zachowują się jak hormony, oddziałują na procesy immunologiczne, hematopoezę, obronę przeciwnowotworową. Niektóre z nich są mediatorami stanu zapalnego.

Cytokiny mogą oddziaływać antagonistycznie, addycyjnie lub synergistycznie. Białka te można podzielić na prozapalne i hamujące proces zapalenia. Do cytokin prozapalnych należą: IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ . Cytokiny hamujące proces zapalny to IL-10, IL-4.

Różne są mechanizmy regulacji działania cytokin. Ich wytwarzanie podlega regulacji na poziomie transkrypcji, translacji lub wydzielania białka. Ponadto oddziaływanie cytokin na komórki zależy od ekspresji receptorów danej cytokiny na komórkach docelowych. Działanie cytokin może być blokowane przez rozpuszczalne receptory cytokin, odpowiednie przeciwciała lub białka zwane naturalnymi antagonistami receptorów [70,103].

Mutacje w genach kodujących cytokiny lub ich receptory mogą mieć znaczenie w patogenezie niektórych chorób, np. mutacja w genie kodującym TNF- $\alpha$ : w reumatoidalnym zapaleniu stawów [52] oraz w chorobie Alzheimera [3], w genie kodującym IL-6: w młodzieńczym zapaleniu stawów [42], chorobie Alzheimera [98].

Zaburzenia regulacji wytwarzania cytokin stwierdzono w stanach chorobowych, np. IL-6 w młodzieńczym idiopatycznym zapaleniu stawów [95], po transplantacji narządów (odrzućcie przeszczepu) oraz po przeszczepie komórek hematopoetycznych [1,105,116].

### POLIMORFIZM GENU

Polimorfizm genu to jednoczesne występowanie w populacji różnych form allelicznych danego genu [46]. Za tworzenie się nowych alleli, czy też nowych genów są odpowiedzialne mutacje, tzn. wszelkie zmiany w sekwencji nukleotydowej DNA. Jako kryterium odróżniające zmianę polimorficzną od mutacji przyjmuje się częstość jej występowania. Jeżeli w populacji występuje ona częściej niż w 10% przypadków, to określa się ją jako zmianę polimorficzną, stąd różnicowanie mutacji od polimorfizmu jest w zasadzie ilościowe.

Mutacje mogą dotyczyć jednego genu (mutacje punktowe) lub większego obszaru DNA (mutacje chromosomowe).

Wśród mutacji punktowych wyróżniamy:

- Substytucję, tzn. zamianę jednego nukleotydu w jednociowym DNA (pary nukleotydów – w dwucioowym DNA) na inny. Możliwe są dwa rodzaje substytucji:
  - transwersja: zamiana zasady purynowej na pirymidynową (A•T $\leftrightarrow$ T•A; A•T $\leftrightarrow$ C•G; G•C $\leftrightarrow$ C•G; G•C $\leftrightarrow$ T•A),
  - tranzycja: zamiana zasady purynowej na purynową i pirymidynowej na pirymidynową (A•T $\leftrightarrow$ G•C; C•G $\leftrightarrow$ T•A),
- Insercję – dodanie jednego lub więcej nukleotydów,
- Delecję - wypadnięcie jednego lub więcej nukleotydów.

Gdy substytucja zachodzi w genie kodującym białko, zmianami objęte są kodony, tzn. trójki nukleotydów w transkrybowanym mRNA.

Zmiana taka może:

- wywoływać zmianę kodowanego aminokwasu (np. kodon argininy AGA w wyniku tranzycji A $\leftrightarrow$ G zmienia się w kodon glicyny GGA),
- nie wpłynąć na zmianę kodowanego białka, gdy zmieniony kodon odpowiada temu samemu aminokwasowi,
- spowodować powstanie kodonu terminacyjnego, będącego sygnałem zakończenia syntezy białka.

Mutacje punktowe typu delecji i insercji mogą powodować zmiany fazy odczytu. Wypadnięcie lub wstawienie jednej zasady powoduje wówczas zmianę układu trójek nukleotydowych i tym samym zmianę większej liczby aminokwasów.

Mutacje mogą zmieniać powinowactwa czynników transkrypcyjnych w rejonie promotorowym genu i w ten sposób wpływać na inicjację transkrypcji białka.

### POLIMORFIZM GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY

Gwałtowny rozwój technik biologii molekularnej pozwolił na odkrycie i opisanie wielu miejsc polimorficznych występujących w różnych genach. Opisano polimorfizm dotyczący wymiany jednej zasady na drugą, tzw. SNP (single nucleotide polymorphism) [42,123] i tzw. mikrosatelitarny, charakteryzujący się różną liczbą powtórzeń krótkich, najczęściej dwunukleotydowych fragmentów [33,99]. Z punktu widzenia immunologii ogromnie interesujące stało się odkrycie istnienia miejsc polimorficznych w genach kodujących cytokiny. Intensywne badania wykazały wpływ istnienia różnych form allelicznych danego genu kodującego cytokiny zarówno na jego funkcjonalne właściwości na poziomie transkrypcji [112] i dotyczące wytwarzania białka [42,96], jak i podatność na niektóre choroby, zwłaszcza autoimmunologiczne [3,52]. Ponieważ transplantacja narządów jest „procesem”, w którym odpowiedź immunologiczna odgrywa główną rolę, intensywnie badano wpływ polimorfizmu genów kodujących cytokiny na wystąpienie powikłań okołoprzeszczepowych w przeszczepach narządowych [62], a także w przeszczepach komórek hematopoetycznych [28]. Występowanie miejsc polimorficznych w regionach promotorowych genu zazwyczaj jest związane z różnym powinowactwem poszczególnych alleli do czynników transkrypcyjnych. Miejsca polimorficzne w genach kodujących cytokiny i ich receptory są opisane na stronie [www.bris.ac.uk/pathandmicro/services/GAI/cytokine4.htm](http://www.bris.ac.uk/pathandmicro/services/GAI/cytokine4.htm) [128].



## MIJESCA POLIMORFICZNE W GENIE TNF

Klaster genów TNF znajduje się na krótszym ramieniu chromosomu szóstego, wewnątrz regionu kodującego geny MHC klasy III. Gen kodujący TNF- $\alpha$  leży pomiędzy genami kodującymi limfotoksynę- $\alpha$  (LT- $\alpha$  - TNF- $\beta$ ) i limfotoksynę- $\beta$  (LT- $\beta$ ). W klasterze genów TNF stwierdzono występowanie sześciu polimorfizmów mikrosatelitarnych [124]. Polimorfizmy mikrosatelitarne TNFa, TNFb, TNFd i TNFf są wieloalleliczne (TNFa - powtórzenia (GT) $_n$  - liczba występujących alleli - 14; TNFb - polimorfizm mikrosatelitarny mononukleotydowy (G/A) $_n$  - liczba obserwowanych alleli 7, przy czym allele drugi i szósty nie występują w populacji rasy kaukaskiej; TNFd - powtórzenia (GA) $_n$  - liczba opisanych alleli 7; TNFf - powtórzenia (CA) $_n$  - liczba alleli 10 - polimorfizm opisany w populacji japońskiej [120]. Ponadto w klasterze genów TNF opisano 11 miejsc polimorficznych wymiany pojedynczej zasady -1031 (T/C), -863 (C/A), -857 (C/A), -851 (C/T), -419 (G/C), -376 (G/A), -308 (G/A), -238 (G/A), -163 (G/A) i -49 (G/A) [52]. Polimorfizmy w pozycjach -419, -163, -49 rzadko występują w populacji kaukaskiej. Poza licznymi miejscami polimorficznymi w obrębie promotora genu kodującego TNF- $\alpha$  (5' końcowa część genu), stwierdzono obecność polimorfizmu w obrębie I eksonu - insercja cytozyny w pozycji +70, wymianę G na A w pozycji +488 w pierwszym intronie oraz delecję guaniny w pozycji +691 również w pierwszym intronie. Region 3' końca tego genu charakteryzuje się dużym konserwatyżmem. Jednakże w ostatnim czasie stwierdzono obecność rzadko występującego w populacji kaukaskiej polimorfizmu SNP wymiany T na C odległego o 322 zasady w kierunku od 3' końca od ostatniego eksonu genu kodującego TNF- $\alpha$ . W obrębie genu kodującego limfotoksynę- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) również występują miejsca polimorficzne, w których dochodzi do wymiany pojedynczej zasady. Dwa spośród nich znajdują się w pierwszym intronie, jeden w eksonie 4. Występowanie niektórych form allelicznych w poszczególnych miejscach polimorficznych jest sprzężone ze sobą i z określonymi swoistościami poszczególnych *loci* HLA, np. TNFe1, TNFd4, TNFc2, TNFa2, TNFb1 oraz występowaniem guaniny w pozycji -308 *TNFA* są sprzężone z HLA-DRB1\*0101 i HLA-B35.

## OPIS MIJESZC POLIMORFICZNYCH W GENIE KODUJĄCYM IFN- $\gamma$

Gen kodujący IFN- $\gamma$  wydaje się bardziej konserwatywny niż geny kodujące inne cytokiny. W obrębie tego genu znaleziono polimorfizm mikrosatelitarny (12-15 powtórzeń CA) oraz ściśle z nim sprzężony polimorfizm SNP - wymiana - T na A w pozycji +874 w pierwszym intronie [99]. Występowaniu 12 powtórzeń CA odpowiada obecność tyminy w polimorficznej pozycji +874, allelom o większej liczbie powtórzeń CA odpowiada adenina. Opisano polimorfizm SNP w promotorze w pozycji -333 (C/T) [48] występujący w populacji szwedzkiej wśród chorych na stwardnienie rozsiane i 4 miejsca polimorficzne w trzecim intronie w pozycjach +2459(A/G), +2671(T/C), +3177(T/G), +3273(A/G) i w eksonie 4 w pozycjach +5199(A/T), +5272(A/G) w populacji japońskiej [64] u osób zdrowych. Polimorfizm w pozycji +2671(T/C) występuje też w populacji rasy kaukaskiej [17]. Natomiast w populacji sudańskiej wykazano obecność dwóch miejsc polimorficznych w pozycjach -188 (G/T) i -155 (A/G) w promo-

torze genu kodującego IFN- $\gamma$  i dwa miejsca polimorficzne w 3 intronie w pozycjach +2109 (A/G) i +3810 (G/A), oba związane z podatnością na schistomatozę oraz kolejnego miejsca polimorficznego w pobliżu 3' końca w pozycji +5134 [22].

## OPIS MIJESZC POLIMORFICZNYCH GENU KODUJĄCEGO IL-6

W promotorowej 5' końcowej części genu kodującego IL-6 wykazano istnienie 4 miejsc polimorficznych. W trzech z nich występuje wymiana pojedynczej zasady na inną: -596 (G/A), -572 (G/C) [119], -174(G/C) [92]. Opisano również polimorfizm mikrosatelitarny charakteryzujący się różną liczbą powtórzeń AnTn, rozpoczynający się od miejsca -373, w którym występują trzy allele o długości 20 par zasad: A8T12, A9T11, A10,T10, dwa allele zawierające 19 par zasad: A9T10 i A10T9 i jeden o 21 parach zasad A10T11. Stwierdzono również związek allelu C w pozycji -174 z allelem A8T12 [42]. Ponadto obecność tego allelu jest skorelowana z występowaniem adeniny w pozycji -597, natomiast obecność guaniny w pozycjach -597 i -174 jest związana z obecnością alleli: A9T10, A10T9 oraz A10T11. Rzadko występującemu allelowi C w pozycji -592 zawsze towarzyszy obecność G w pozycjach -597 i -174. Najczęściej występujące haplotypy to: -597A, -592G, A8T12, -174C; -597G, -592G, A10T11, -174; -597G, -592G, A9T11, -174G; -597G, -592G, A10T10, -174G.

## OPIS MIJESZC POLIMORFICZNYCH GENU KODUJĄCEGO IL-10

Początkowo w promotorowej części genu kodującego IL-10 opisano występowanie trzech miejsc polimorficznych w pozycjach: -1082 (G/A), -819 (C/T) i -592 (C/A) [123]. Allele w tych pozycjach są w ścisłym związku i występują tylko trzy kombinacje współlistnienia zasad w miejscach polimorficznych GCC, ACC, ATA.

Ponadto istnieją dwa miejsca, w których występuje polimorfizm mikrosatelitarny: powtórzenia CA rozpoczynające się od pozycji -4034 do -4009 nazywany IL10.R i powtórzenia CA rozpoczynające się od pozycji -1064 nazywany IL10.G [33,35]. Wykazano również obecność miejsc polimorficznych: -1354 (G/A), -3538 (A/T), ściśle związanych z polimorfizmem w miejscu -1082 i trzeci w pozycji -350 (wymiana C na G), ale obserwowany tylko u jednej osoby [34]. Stwierdzono, że w populacji holenderskiej allele mikrosatelitarne są ze sobą sprzężone i najczęściej występują osoby posiadające allele: IL10.R3 i IL10.G9 (21,8%) i IL10.R2 i IL10.G13 (20,5%). Allele mikrosatelitarne IL-10.G zawierające większą liczbę powtórzeń (allele: 12-16) są sprzężone z występowaniem allelu ACC.

Określenie pozycji miejsc polimorficznych przez Turnera i wsp. [123] i przez Eskdale i wsp. [34] jest różne. Pozycja -1082 opisana przez Turnera odpowiada pozycji -1095 opisanej przez Eskdale'a i wsp. [34,123].

W roku 2001 odkryto dalsze polimorficzne miejsca w promotorowej części genu kodującego IL-10 w pozycji -3715 (A/T), -3575 (T/A), -2849 (G/A), -2776 (A/G), -276 (C/A), -2100 (C/A) i -2050 (G/A) [47], a także w dalszej części promotora w pozycjach -8573 (C/T), -8531 (G/A), -6752 (A/T), -6208 (G/C), -5402 (C/G) [74].

**WPLYW GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY NA WYTWARZANIE BIAŁKA**

Zaobserwowano, że istnieją różnice w poziomie cytokin uwalnianych w hodowli komórek z pełnej krwi obwodowej zdrowych dawców, pod wpływem stymulacji mitogenem. Co więcej, różnice te są niezależne od czasu, tzn. niektóre osoby wytwarzają duże ilości cytokin niezależnie od czasu badania, a ponadto wytwarzanie każdej cytokiny jest regulowane niezależnie. Wskazywało to na genetyczne predyspozycje do zróżnicowanego wytwarzania cytokin [62].

Pierwsze badania dotyczące wpływu polimorfizmu cytokin na uwalnianie białka prowadzone były dla TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$ . Badany był polimorfizm w pozycji -308 (G/A) w genie *TNFA* i w pozycji +1069 *TNFB*, tzw. polimorfizm NcoI. Prace Bouma i wsp. [16] i Louisa i wsp. [79] wskazywały na związek allelu A ze zwiększonym wytwarzaniem TNF- $\alpha$ . Jednakże prace Hunziga i wsp. [61] i Mycko i wsp. [89] nie potwierdzały takiej korelacji.

Wykazano wpływ polimorfizmu genu *TNFB* na poziom TNF- $\alpha$  w surowicy pacjentów z ciężkim zakażeniem [110]. Podobną zależność opisuje Abraham i wsp. [2].

W pracach naszego zespołu wykazano wpływ polimorfizmu genów *TNFA* w pozycji -308 i *TNFB* w pozycji +1069 na ich ekspresję [112].

Mikrosatelitarny polimorfizm TNFd jest związany z różnym wytwarzaniem TNF- $\alpha$ , co wykazano u chorych po przeszczepie serca [121]. Stąd wytwarzanie danej cytokiny może być zależne od współistnienia różnych form allelicznych w różnych miejscach polimorficznych.

Zależność pomiędzy polimorfizmem genu kodującego IL-6 w pozycji -174 (C/G) a poziomem tej cytokiny w surowicy osób zdrowych opisali Fishman i wsp. [42]. Autorzy ci wykazali, że osoby zdrowe posiadające allel C mają niższy poziom IL-6 w surowicy. Ponadto stwierdzono, że komórki HeLa transfekowane genem IL-6, mającym w pozycji polimorficznej guaninę charakteryzują się wysoką ekspresją IL-6. Doniesienia te znalazły potwierdzenie w pracach Fernandez-Reela i wsp. [39,40].

W pracach naszego zespołu oznaczono poziom IL-6 w różnym czasie po przeszczepie komórek hematopoetycznych w zależności od genotypu pacjenta. Zaobserwowano niższe poziomy aktywności IL-6 oraz białka C-reaktywnego (CRP- białko odczytowe dla IL-6) u pacjentów o genotypie CC w różnym czasie po przeszczepieniu komórek hematopoetycznych [68].

Problem jest dalej nierozstrzygnięty, ponieważ Terry i wsp. [119] nie udało się wykazać zależności pomiędzy polimorfizmem w pozycji -174 a wytwarzaniem IL-6 w układzie komórek HeLa i ECV304 transfekowanych różnymi polimorficznymi kombinacjami genu dla IL-6. Stwierdzili, że poziom cytokiny zależy od układu zasad w różnych miejscach polimorficznych w genie kodującym IL-6.

Opisano wpływ polimorfizmu w promotorowej części genu kodującego IL-10 w pozycji -1082 (G/A) na wytwarzanie białka *in vitro* w stymulowanych konkanawa-

liną A hodowlach komórek wyizolowanych z pełnej krwi obwodowej. Osoby posiadające w polimorficznej pozycji guaninę wytwarzały duże ilości IL-10. Opisano również inne polimorficzne pozycje w promotorowej części tego genu: -819 (C/A) i w pozycji -592 (C/A), jednak nie były one polimorfizmami funkcjonalnymi, tzn. nie obserwowano ich wpływu na wytwarzanie białka ani na ekspresję genu [121]. Ostatnie doniesienia Gibsona i wsp. [47] wykazują wpływ nowo odkrytego polimorfizmu w pozycjach -3715 A/T, -3575 T/A, -2849 G/A, -2776 A/G, -2763 C/A, -2100 C/A i -2050 G/A na wytwarzanie białka u zdrowych dawców. Posiadacze A w polimorficznej pozycji -3575 i jednocześnie A w pozycji -2763 niezależnie od nukleotydu występującego w pozycji -2849 wytwarzały niewielkie ilości IL-10.

Badania mikrosatelitarnego polimorfizmu w I intronie genu kodującego IFN- $\gamma$  wykazały silną korelację allelu, w którym występuje 12 powtórzeń CA z dużą sekrecją białka *in vitro* [99]. W pracy tej opisano także korelację polimorfizmu mikrosatelitarnego z polimorfizmem SNP w pozycji +874 (T/A) i zależność znacznego wytwarzania cytokiny od obecności tymidyny w polimorficznej pozycji +874.

**WPLYW POLIMORFIZMU GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY NA PODATNOŚĆ NA CHOROBY**

W wielu doniesieniach literaturowych wykazano wpływ polimorfizmu genów kodujących cytokiny na podatność na choroby, zwłaszcza o podłożu autoimmunologicznym. Początkowo badano wpływ polimorfizmu genów kodujących TNF- $\alpha$  i TNF- $\beta$ , ponieważ geny te są umiejscowione na krótkim ramieniu chromosomu 6, wewnątrz regionu MHC, pomiędzy HLA-B a tzw. genami MHC klasy III. Wydawało się więc, że mogą wpływać na podatność na choroby autoimmunologiczne związane z HLA.

Przypuszczenia okazały się słuszne i stwierdzono zależność podatności na choroby od różnych genotypów *TNFA* i *TNFB*, przy czym znaczenie mają zarówno SNP w pozycji -308 jak i polimorfizm mikrosatelitarny. Jednakże związki te często są różne w różnych populacjach. Ponadto istnieje nieodróżnienie sprzężeń i różne allele, zarówno mikrosatelitarne jak i SNP, są związane silnie z obecnością niektórych haplotypów, np. A1, B8, DRB1\*0301 w populacji kaukaskiej z allelem TNFa2, TNFb1 i d3 [54,127]. Haplotyp ten (A1, B8, DRB1\*0301) jest związany z toczeniem rumieniowatym (SLE) w populacji Brytyjczyków rasy kaukaskiej [127]. Natomiast u Greków występowanie SLE jest związane z HLA-DR2 i z allelem TNFA\*11 [118].

Podobnie dla reumatoidalnego zapalenia stawów wykazano związek pomiędzy polimorfizmem genu kodującego TNF- $\alpha$  w pozycji -308 a podatnością na tę chorobę [51,81]. Ponadto udowodniono wpływ polimorfizmu TNFA na wystąpienie stwardnienia rozsianego [61] i cukrzycy insulinozależnej [87]. W badaniach prowadzonych przez nasz zespół wykazano związek pomiędzy polimorfizmem TNFA w pozycji -308 a podatnością na sarkoidozę. Pacjenci, u których występowały symptomy Löfgrena częściej posiadali allel TNFA\*2 niż pozostali pacjenci. Ponadto wykazano, że ta postać choroby jest związana z HLA-DR3, z jednoczesnym występowaniem HLA-DR3 i TNFA\*2 [112].



Pierwsze doniesienia o wpływie polimorfizmu genu kodującego IL-6 dotyczyły młodzieńczego reumatoidalnego zapalenia stawów [42]. Wykazano, że wśród chorych na tę chorobę mniej było pacjentów o genotypie CC. Z kolei Pignatti i wsp. [95] stwierdzili brak wpływu polimorfizmu genów w pozycji -174 i mikrosatelitarnego AT na młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów. Szeroko badano związek genotypu IL-6 z chorobą Alzheimera. Wykazano wpływ polimorfizmu mikrosatelitarnego AT w 3' końcowej części genu na podatność na to schorzenie, ale nie wykazano wpływu polimorfizmu w promotorowej części genu w pozycji -174 [10]. Stwierdzono również wysokie ryzyko osteoporozy związane z polimorfizmem IL-6 3' AT [88], a u japońskich kobiet po menopauzie z polimorfizmem mikrosatelitarnym CA [120].

Nie znaleziono wpływu polimorfizmu SNP w pozycji -174 ani mikrosatelitarnego IL-6 3' AT na podatność na miastenię [60].

Podobnie jak w przypadku genu *TNFA*, badano związek polimorfizmu mikrosatelitarnego AT genu kodującego IL-6 z toczeniem rumieniowatym. Wykazano istnienie takiego związku, ale badania prowadzone wśród ludzi rasy kaukaskiej i Afroamerykanów wykazały różny wpływ genotypu mikrosatelitarnego IL-6 3' AT. Nie wykazano związku polimorfizmu w pozycji -174 z toczeniem rumieniowatym [78].

Badania Fernandez-Reala i wsp. [39,40] przeprowadzone wśród ludzi zdrowych wykazały związek genotypu (-174) IL-6 G+ z wystąpieniem nieprawidłowości w gospodarce lipidowej i cukrowej.

Najwcześniej odkryte polimorfizmy genu kodującego IL-6 związane z wrażliwością na cięcie enzymami restrykcyjnymi: *Bgl II* i *Msp I* [14,45] nie wykazały związku z reumatoidalnym zapaleniem stawów.

Badając wpływ polimorfizmu genu kodującego IL-10 na wystąpienie chorób z grupy autoagresji, znaleziono wpływ polimorfizmu w promotorowej części genu na podatność na toczeń rumieniowaty, przy czym istotne okazały się zarówno mutacje punktowe jak i polimorfizm mikrosatelitarny IL-10.G, ale nie IL-10.R [37]. Podobnie jak dla genów kodujących inne cytokiny istnieją różnice populacyjne, i tak dla populacji chińskiej genotyp ATA jest związany z częstszym występowaniem SLE [86], a dla rasy kaukaskiej genotyp GCC [77]. Ostatnie doniesienia Gibsona i wsp. [47] mówiące o nowo znalezionych miejscach polimorficznych, wskazują na wpływ genotypu -2763 IL-10 A na zwiększone ryzyko wystąpienia tej choroby w populacji Afroamerykańskiej.

Istnienie polimorfizmu IL-10.G nie miało związku z chorobami zapalnymi jelit [93], ale wystąpienie guaniny w pozycji -1082 zwiększało podatność na te choroby [114].

Wykazano wpływ mikrosatelitarnego IL-10.G [82] na stwardnienie rozsiane, ale brak wpływu polimorfizmu w pozycjach -1082, -819, -592 [83] na tę chorobę. Doniesienia de Jong i wsp. [26] mówią o związkach ostatnio odkrytego polimorficznego miejsca -2849 z tą chorobą.

Stwierdzono brak wpływu polimorfizmu mikrosatelitarnego IL-10.R na reumatoidalne zapalenie stawów [36].

Natomiast polimorficzne miejsca w pozycjach -1082, -592, -819 wydają się mieć wpływ na występowanie tej choroby [24,53].

Znaleziono również związek allelu -592 IL-10 A z wystąpieniem nagłej śmierci niemowląt [111].

Polimorfizm mikrosatelitarny IL-10.G jest prawdopodobnie związany z dziedziczną podatnością na łuszczycę [4]. Nie wykazano związku pomiędzy polimorfizmem genu IL-10 w pozycji -1082 z tą chorobą [101].

Badania nad polimorfizmem genu dla IFN- $\gamma$  wykazały wpływ mikrosatelitarnego polimorfizmu na podatność na choroby. Podobnie jednak jak dla *TNFA* związek pomiędzy polimorfizmem genu kodującego IFN- $\gamma$  a chorobami jest zależny od populacji, np. podatność na wystąpienie cukrzycy typu I w zależności od genotypu IFN stwierdzono w populacji Brytyjczyków rasy kaukaskiej [65] i populacji japońskiej [8], natomiast nie w populacji fińskiej i duńskiej [97]. Podobną zależność od populacji w przypadku stwardnienia rozsianego stwierdził Goris i wsp. [49]. Porównywał on 7 różnych populacji i stwierdził zarówno duże różnice w dystrybucji mikrosatelitarnych alleli IFN jak i w znajdowanych, bądź nie, związkach polimorfizmu z chorobą. W pracach naszego zespołu stwierdzono, że genotyp IFN 12 powtórzeń CA związany jest ze zwiększoną podatnością na sarkoidozę, w szczególności na wystąpienie zespołu Löfgrena [130].

#### **RYZYKO WYSTĄPIENIA POWIKŁAŃ PO TRANSPLANTACJI NARZĄDÓW**

Głównym problemem przy transplantacji narządów unaczynionych jest odrzucanie przeszczepu. Towarzyszą temu procesy immunologiczne: prezentacja aloantygenów z następowym uwalnianiem cytokin, aktywacją komórek T, indukcją limfocytów cytotoksycznych (CTL), z odpowiedzią komórek NK. Jest to proces cytokinozależny, podobny do obserwowanego po przeszczepie szpiku [75]. Dlatego badano wpływ polimorfizmu genów kodujących cytokiny na los przeszczepionego narządu. Rozpatrywano wpływ polimorfizmu różnych genów na ostre i przewlekłe odrzucanie przeszczepu.

#### **OSTRE ODRZUCENIE PRZESZCZEPU**

W ostrym odrzuceniu przeszczepu główną rolę odgrywiają komórki CD4+, rozpoznające albo obce antygeny MHC klasy II, albo obce alopeptydy prezentowane przez własne DR+ komórki biorcy. W odpowiedzi na prezentację antygeny, komórki Th1 uwalniają IFN- $\alpha$ , IL-2 i IL-4. Interleukina 2 jest niezbędnym czynnikiem aktywacji limfocytów T cytotoksycznych. Aktywuje makrofagi do uwalniania cytokin prozapalnych (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1). Interleukiny 4 i 10 sprzyjają humoralnej odpowiedzi biorcy. IFN- $\alpha$  pełni wieloraką rolę w procesie odrzucania przeszczepu. Aktywuje komórki zapalne do wytwarzania cytokin, wzmacnia ekspresję molekuł adhezyjnych, co ułatwia infiltrację przeszczepu przez pomocnicze komórki odpornościowe, wywołuje ekspresję antygenów DR na komórkach przeszczepionego narządu. Dlatego w profilaktyce ostrego odrzucenia przeszczepu istotną rolę pełni dobór pod względem antygenów DR dawcy przeszczepu i stosowanie terapii immunosupresyjnej - hamującej wytwarzanie cytokin, co ma szczególne znaczenie przy przeszczepie nerek [62].

## PRZEWLEKŁE ODRZUCANIE PRZESZCZEPU

W przewlekłym odrzucaniu przeszczepu zarówno procesy immunologiczne jak i nieimmunologiczne odgrywają równoważną rolę. Immunologiczny atak zarówno komórkowy jak i humoralny, jest wspomagany, nasilany przez infekcje wirusowe. Nadciśnienie i hiperlipidemia wpływają na komórki przeszczepianego narządu. W przeszczepach nerek dochodzi do zmiany konstelacji molekuł powierzchniowych i do wytwarzania m.in. transformującego czynnika wzrostu  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ ) i płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGF). Zasadnicze zmiany obserwowane w typowym przewlekłym odrzuceniu przeszczepu - zwłóknienie i stwardnienie tętnic - spowodowane są lokalnym działaniem tych cytokin na ścianę naczyń [62].

Pierwsze doniesienia o wpływie polimorfizmu genów kodujących cytokiny na los przeszczepów narządowych dotyczyły zależności pomiędzy polimorfizmem genu kodującego TNF- $\alpha$ , a poziomem tej cytokiny u pacjentów po transplantacji serca. Turner i wsp. [121] wykazali wpływ polimorfizmu mikrosatelitarnego TNFd na uwalnianie TNF- $\alpha$ . Allel TNFd3 był związany ze zwiększonym wytwarzaniem cytokiny przez leukocyty. Wykazano natomiast brak korelacji pomiędzy polimorfizmem -308 *TNFA* a wytwarzaniem TNF- $\alpha$ , co mogło być spowodowane stosowaniem cyklosporyny jako terapii immunosupresyjnej u badanych pacjentów po transplantacji serca (czynnik NF $\kappa$ B, na który oddziałuje cyklosporyna wiąże się w miejscu występowania polimorfizmu, pozycja -308).

### WPLYW POLIMORFIZMU GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY NA OSTRE ODRZUCENIE PRZESZCZEPU

W przeszczepach serca, w których dawca nie jest dobiewany pod względem antygenów zgodności tkankowej, obserwowano ścisły związek pomiędzy genotypem mikrosatelitarnym odpowiedzialnym za zwiększone wytwarzanie TNF- $\alpha$  a ostrym odrzuceniem przeszczepu [121] i zgonem z powodu odrzucenia przeszczepu [9]. Przypuszczano, że w przeciwieństwie do TNF- $\alpha$ , osoby charakteryzujące się zwiększonym wytwarzaniem IL-10 powinny być obciążone mniejszym ryzykiem ostrego odrzucenia przeszczepu. W przypadku przeszczepu serca przypuszczenia się potwierdziły i rzeczywiście u biorców posiadających w polimorficznej pozycji -1082 G rzadziej obserwowano to powikłanie [121]. Nie stwierdzono wpływu polimorfizmu *TNFA* w pozycji -308 na los przeszczepionego serca. W przeciwieństwie do tych doniesień Awad i wsp. [7] wykazali, że polimorfizm w pozycji -308 wpływa na los pacjentów (dzieci) po transplantacji serca. Oba doniesienia [7,121] zgodnie wskazują, że osoby wytwarzające małe ilości TNF- $\alpha$  i duże IL-10 są mniej narażeni na odrzucenie przeszczepu. Nie wykazano wpływu polimorfizmu genów kodujących: IL-6, IFN- $\gamma$  i TGF- $\beta 1$  na ryzyko ostrego odrzucenia przeszczepu serca [7,12].

Badania nad losem przeszczepu nerek w przypadkach braku doboru pod względem HLA-DR wykazały wpływ genotypu TNF na ostre odrzucenie przeszczepu. Powikłanie to wystąpiło w 70% u pacjentów o genotypie charakteryzującym się zwiększonym wytwarzaniem TNF- $\alpha$ , tzn. posiadających A w polimorficznej pozycji -308 [106]. Odmiennie niż w przeszczepach serca, w przypadku przeszczepów ne-

rek okazało się, że osoby wytwarzające duże ilości IL-10 (posiadający guaninę w pozycji -1082) są bardziej predysponowane do odrzucenia przeszczepu [106]. Może to być spowodowane większą wrażliwością nerki na odrzucenie humoralne, gdyż IL-10 aktywuje limfocyty B i powoduje zwiększone wytwarzanie przeciwciał.

Z kolei w populacji koreańskiej, gdzie dystrybucja genotypów jest odmienna i obserwuje się inny związek polimorfizmu w pozycji -1082 z wytwarzaniem cytokiny, pacjenci homozygoty -1082 A/A wykazują duże poziomy IL-10 i są bardziej narażeni na ostre odrzucenie przeszczepu nerki [104].

Badania dotyczące wpływu genotypu IFN- $\gamma$  na ostre odrzucenie przeszczepu nerki wykazały, że genotyp IFN- $\gamma$  w połączeniu z genotypem IL-10 jest związany z ryzykiem wystąpienia tego powikłania. Większym ryzykiem obciążeni byli chorzy o genotypie związanym ze zwiększonym wytwarzaniem zarówno IFN- $\gamma$  jak i IL-10 [5].

Natomiast w pracy Cartwrighta i wsp. [18] stwierdzono brak korelacji pomiędzy polimorfizmem genów *IL-10*, *IL-6*, *TNFA*, *IL-4* i *IFN-gamma* a poziomem uwalnianych cytokin w badaniach *in vitro* i wystąpieniem ostrego odrzucenia przeszczepu.

Udowodniono także podwyższone ryzyko wystąpienia ostrego odrzucenia wątroby u osób wytwarzających duże ilości TNF- $\alpha$ . [11,38]. Nie znaleziono korelacji pomiędzy ostrym odrzuceniem wątroby a genotypem IL-10 [38,117], IFN- $\gamma$  i IL-6 [117].

### WPLYW POLIMORFIZMU GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY NA PRZEWLEKŁE ODRZUCENIE PRZESZCZEPU

Znaczenie wystąpienia różnych form allelicznych genu kodującego IFN- $\gamma$  i IL-10 dla wystąpienia przewlekłego odrzucenia nerki było badane przez Asderakisa i wsp. [5]. Stwierdzili oni, że u pacjentów o genotypie IFN- $\gamma$  związanym ze zwiększonym wytwarzaniem cytokiny (12 powtórzeń CA) obserwowano wyższe poziomy kreatyniny w moczu. Natomiast osoby wytwarzające duże ilości IL-10 wykazywały lepsze funkcjonowanie przeszczepionego organu w 5-letniej obserwacji. Genotyp IFN- $\gamma$  związany ze zwiększonym wytwarzaniem cytokiny jest odpowiedzialny za zwiększone ryzyko zwłóknienia po przeszczepie płuc [7]. Wystąpienie zwłóknienia po przeszczepie płuc jest również silnie związane z polimorfizmem TGF- $\beta$ . Osoby wytwarzające duże ilości tego białka są bardziej podatne na to powikłanie [7,32].

W przypadku transplantacji nerki, biorecy o genotypie odpowiedzialnym za zwiększone wytwarzanie TGF- $\beta$  rzadziej pojawiali się w grupie pacjentów, u których przeszczepiony narząd funkcjonował dłużej niż 30 miesięcy [7].

Wykazano także wpływ polimorfizmu genu kodującego TGF- $\beta$  na stwardnienie naczyń w przeszczepach serca [59].

### WPLYW POLIMORFIZMU GENOTYPÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY U DAWCY NA LOS PACJENTÓW PO PRZESZCZEPIE NARZĄDÓW

Marshall i wsp. [80] analizowali wpływ polimorfizmu genów kodujących cytokiny i ich receptory u dawcy nerki na odrzu-



cenie przeszczepu przez biorcę. Wykazali oni, że polimorfizm genu kodującego IL-6 w pozycji -174 silnie wpływa na los przeszczepionego narządu i genotyp IL-6 CC dawcy związany jest z wysokim ryzykiem odrzucenia przeszczepu.

Ponadto badano polimorfizm następujących genów dawców: *TNFA* w pozycjach +488, -238, -308, *TNFB* w pozycjach: +249, +365, +720 oraz genów dla *IL-1α* w pozycji -899, *IL-1β*, *IL-4* w pozycji -590 i jej receptora w pozycji -1902, *IL-10* w pozycjach -1082, -819, -592 i *TGFβ* w pozycji -880, -509 i stwierdzono, że żaden z nich nie ma wpływu na odrzucenie przeszczepu w pierwszych 30 dniach po transplantacji [80].

Natomiast Hutchinson i wsp. [62] podają, że genotyp TNF dawcy związany ze zwiększonym wytwarzaniem cytokiny koreluje z lepszym przeżyciem po transplantacji serca.

### **PRZESZCZEP KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH (HSCT)**

Od wielu lat przeszczep komórek hematopoetycznych stanowi ważną i ciągle ewoluującą metodę leczenia pacjentów z nowotworami układu krwiotwórczego, niewydolnością szpiku i wadami komórek krwiotwórczych. Przeszczep polega na wprowadzeniu komórek hematopoetycznych dawcy do uprzednio przygotowanego organizmu biorcy. Elementy morfotyczne przeszczepionej tkanki mają za zadanie zapewnienie całkowitej odnowy układu krwiotwórczego.

Przygotowanie biorcy, tzw. uwarunkowanie przeszczepu, polega na zniszczeniu komórek krwiotwórczych gospodarza i stworzeniu warunków do zdomowienia i proliferacji przeszczepionych komórek.

W zależności od pochodzenia komórek hematopoetycznych wyróżniamy przeszczepy:

- Autologiczny – szpik kostny (BM) lub wyodrębnione z krwi obwodowej komórki progenitorowe układu krwiotwórczego (PBPC) pochodzą od biorcy przeszczepu,
- Alogeniczny – dawca materiału przeszczepowego (szpik kostny, komórki progenitorowe krwi obwodowej lub krew pępowinowa) jest dobrany pod względem antygenów głównego kompleksu zgodności tkankowej (major histocompatibility complex – MHC), u ludzi określanego jako HLA (human leukocyte antigens). Stopień doboru dawcy decyduje między innymi o reakcji GvH.

Dawcą przeszczepu alogenicznego może być: dawca rodzinny – zgodne pod względem HLA rodzeństwo, dawca niespokrewniony – dobrany pod względem określonych *loci* HLA, dawca haploidentyczny, tzn. dawca rodzinny posiadający jeden haplon identyczny z biorcą (tożsamość genetyczna), a drugi dobrany w jak największej liczbie *loci* HLA (podobieństwo fenotypowe).

### **POWIKŁANIA PO ALOGENICZNYM PRZESZCZEPIE KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH**

Do najczęściej występujących powikłań po przeszczepie szpiku należą:

- Toksyczność wywołana uwarunkowaniem przeszczepu.
- Choroba przeszczep przeciw gospodarzowi,
- ostra choroba przeszczep przeciw gospodarzowi (aGvHD),

- przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi (cGvHD).

- Odrzucenie przeszczepu.
- Zakażenia (oportunistyczne bakteryjne), infekcje wirusowe, reaktywacje wirusów.

### **POWIKŁANIA TOKSYCZNE ZWIĄZANE Z UWARUNKOWANIEM PRZESZCZEPU**

Idealne przygotowanie (uwarunkowanie) pacjenta z chorobami rozrostowymi krwi do przeszczepienia komórek hematopoetycznych powinno spowodować zniszczenie nowotworu, przy akceptowalnej toksyczności i mieć wystarczające działanie immunosupresyjne, aby zapobiec odrzuceniu alog przeszczepu [94]. Niestety takie idealne uwarunkowanie nie istnieje i leczenie podstawowej choroby jest zawsze okupione licznymi powikłaniami. Skala toksyczności opisuje niepożądane efekty chemioterapii i pozwala opisać stopień uszkodzenia poszczególnych narządów.

Do oceny toksyczności stosowana jest skala WHO [129], pozwalająca na ocenę toksycznego uszkodzenia układu krwiotwórczego, układu krzepnięcia, metabolizmu, błony śluzowej jelita cienkiego i grubego, wątroby, nerek, pęcherza moczowego, serca, płuc, błony śluzowej jamy ustnej, skóry oraz ośrodkowego systemu nerwowego. Dodatkowo ocenia się: ból, występowanie gorączki niewiadomego pochodzenia, występowanie infekcji, utratę masy ciała, utratę owłosienia. Dla każdego z narządów skala wyróżnia 4 stopnie natężenia zmian w oparciu o charakterystyczne dla danego narządu objawy kliniczne i parametry biochemiczne. Toksyczność przeszczepowa związana z uwarunkowaniem przeszczepu oceniana jest w następujących narządach: układ krwiotwórczy, wątroba, śluzówka jamy ustnej, skóra, jelito cienkie i grube, nerki i pęcherz moczowy oraz płuca. Ocenia się ponadto ból, występowanie gorączki niewiadomego pochodzenia, występowanie infekcji, utratę masy ciała. Toksyczność całkowita jest oznaczana jako maksymalny stopień występujący w którymkolwiek z organów w okresie do 28 dni po przeszczepie (w przypadku płuc – do setnego dnia po HSCT) [91]. W zmianach toksycznych I stopnia obserwuje się kliniczne i biochemiczne łagodne, w pełni odwracalne, zmiany niewymagające interwencji medycznej. Stopień II związany jest z klinicznie znaczącymi, ale odwracalnymi zmianami w narządach wymagających leczenia. Zmiany III stopnia świadczą o dużym toksycznym uszkodzeniu narządów, wymagają one intensywnego leczenia. Toksyczne uszkodzenie IV stopnia świadczy o stanowiącym zagrożenie życia uszkodzeniu narządów i wymaga intensywnego leczenia.

### **CHOROBA PRZESZCZEP PRZECIW GOSPODARZOWI – (GvHD)**

Wystąpienie choroby jest związane z rozpoznaniem alog antygenów gospodarza przez dojrzałe immunokompetentne limfocyty T dawcy. Towarzyszy temu ekspansja limfocytów cytotoksycznych oraz komórek NK, zwiększone wytwarzanie cytokin, ekspresja molekuł adhezyjnych i cząsteczek kostymulujących odpowiedź immunologiczną [13,63,76].

Choroba przeszczep przeciw gospodarzowi może występować w postaci ostrej lub przewlekłej. Obie postacie różnią się m.in. czasem pojawienia, profilem dominujących cytokin oraz narządami docelowymi.



## **OSTRA CHOROBA PRZESZCZEP PRZECIW GOSPODARZOWI (aGvHD)**

Ostra choroba przeszczep przeciw gospodarzowi pojawia się od kilku dni do 100 dni po przeszczepie [27]. Głównymi organami docelowymi są skóra, wątroba i przewód pokarmowy. Chorobę, w zależności od nasilenia objawów klinicznych klasyfikuje się według ogólnie przyjętej 4 stopniowej skali zaproponowanej przez Przepiórkę i wsp. [100].

Objawy aGvHD i stopień ich zaawansowania opisywane są w poszczególnych narządach, a następnie ocenia się stopień ciężkości aGvHD uogólniony dla pacjenta.

Skala aGvHD zazwyczaj pozwala przewidzieć kliniczny przebieg choroby. Stopień I związany jest z dobrym rokowaniem (100-dniowe przeżycie osiąga 77–90% pacjentów), II stopień odpowiada średnio-ciężkiej chorobie (przeżycie powyżej 100 dni u 66–92% chorych). Stopień III i IV związany jest z ciężką zagrażającą życiu postacią choroby (przeżycie powyżej 100 dni u 29–62% i 23–25% pacjentów, odpowiednio dla stopnia III i IV) [100].

Diagnostyka ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi opiera się na objawach klinicznych i badaniach pomocniczych, w tym głównie biopsji narządów, w których aGvHD się objawia. Mikroskopowo ostra choroba przeszczep przeciw gospodarzowi charakteryzuje się masywnymi naciekami limfocytarnymi, prowadzącymi do niszczenia struktury narządu (infiltracja keratynocytów w skórze i nabłonka krypt jelitowych). W keratynocytach warstwy podstawnej naskórka na komórkach nabłonka przewodów żółciowych wątroby obecna jest ekspresja antygenów DR, która w warunkach fizjologicznych na tych komórkach nie występuje [76].

### **ROLA CYTOKIN W PATOFIZJOLOGII CHOROBY PRZESZCZEP PRZECIW GOSPODARZOWI**

Patofizjologia choroby przeszczep przeciw gospodarzowi jest skomplikowanym procesem, w którym zaangażowane są limfocyty T dawcy, cytokiny prozapalne i endotoksyny. W modelu zaproponowanym przez Ferrarę i wsp. [41] zmodyfikowanym przez Cooke'a [23] i Hollera i wsp. [56] rozpatrywane są trzy oddzielne fazy rozwoju tej choroby.

#### **Faza 1. Indukcja cytokin w czasie procedury uwarunkowania przeszczepu u biorcy**

Uwarunkowanie przeszczepu: radio- i chemioterapia uszkadzają i aktywują tkanki gospodarza. Aktywowane komórki biorcy wydzielają cytokiny, takie jak: TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 [69, 73, 102]. Obecność prozapalnych cytokin w tej fazie prowadzi do uszkodzenia śródbłonka naczyń i ich aktywacji [31].

Uwarunkowanie przeszczepu bezpośrednio przyczynia się do uszkodzenia śluzówki przewodu pokarmowego, co powoduje przemieszczenie produktów bakteryjnych, takich jak lipopolisacharydy (LPS) do cyrkulacji wewnątrztrzewnowej. Lipopolisacharyd również powoduje wzmożone wydzielanie cytokin prozapalnych.

Prozapalne cytokiny mogą powodować aktywację komórek T bezpośrednio lub pośrednio przez wzrost ekspresji antygenów HLA DR i cząsteczek adhezyjnych [50], w ten

sposób wzmacniając rozpoznanie aloantygenów gospodarza przez dojrzałe limfocyty T dawcy znajdujące się w materiale przeszczepowym. Następuje wówczas aktywacja (rozpoznanie antygeny, proliferacja i różnicowanie) komórek T dawcy.

Udowodniono rolę dużego stężenia TNF- $\alpha$  jako czynnika ryzyka rozwoju GvH [58]. Zostało to potwierdzone w dalszych badaniach, w których stosowano przeciwciała neutralizujące TNF- $\alpha$  i wykazano, że ich zastosowanie opóźnia występowanie ciężkiej postaci tej choroby [57].

Badania na modelu mysim porównujące działanie różnych dawek TBI (total body irradiation) na wystąpienie ciężkiej postaci aGvHD wykazały, że wzmożone, bardziej agresywne uwarunkowanie przeszczepu powoduje zwiększone ryzyko ciężkiego aGvHD i korelację tej zależności z podwyższonym poziomem TNF- $\alpha$  i LPS w surowicy, a także ze zwiększonym uszkodzeniem tkanek przewodu pokarmowego [55].

#### **Faza 2. Aktywacja komórek T dawcy**

Podczas prezentacji antygeny komórki T rozpoznają kompleks MHC/peptyd przez swoisty receptor na komórkach T (TCR). W alogeniczej reakcji prowadzącej do GvHD dojrzałe limfocyty T dawcy rozpoznają obce MHC gospodarza lub obce białka prezentowane przez własne MHC. Prezentacji tej musi towarzyszyć sygnał kostymulujący przekazywany przez układ CD28/B7 i/lub CD40/CD40L. Aktywacja drogi pobudzenia rozpoczynającej się receptorem CD28 prowadzi do proliferacji i syntezy cytokin. CD28 ma swoje naturalne ligandy na komórce prezentującej antygen. Są to B7-1 (CD80) i B7-2 (CD86). Nieobecność lub blokowanie B7 na komórkach prezentujących antygen APC stanowi ważny mechanizm prowadzący do powstania tolerancji obwodowej. Tego typu tolerancja występuje fizjologicznie i dotyczy autoantygenów. Są one obecne na własnych komórkach organizmu. Komórki te pozbawione są ligandu dla CD28. Brak czynnika kostymulującego prowadzi do eliminacji klonów rozpoznających antygeny własne. Poza interakcją CD28-B7 niezbędne do pobudzenia komórki jest pobudzenie przez układ CD40-CD40L, który powoduje wzrost ekspresji B7 [75].

W zależności od tego, w której klasie antygenów HLA istnieją różnice między dawcą i biorcą, aktywowane są różne komórki T. Różnice w HLA klasy II stymulują komórki CD4+, różnice w HLA klasy I aktywują komórki CD8+.

Aktywacja komórek T pod wpływem prezentacji antygeny wywołuje wiele wewnątrzkomórkowych zmian biochemicznych: wzrost stężenia wolnego wapnia w cytoplazmie, aktywację kinazy białkowej C oraz kinaz tyrozynowych. To z kolei aktywuje transkrypcję genów dla cytokin, takich jak, IL-2, IFN- $\gamma$  oraz ich receptorów. Te cytokiny są wytwarzane przez subpopulację Th1. Uczestniczą w kontrolowaniu i rozwoju odpowiedzi immunologicznej wobec aloantygenów przez indukowanie limfocytów cytotoksycznych (CTL) i odpowiedzi komórek NK oraz aktywację monocytów i makrofagów do wytwarzania cytokin prozapalnych.

Szczególne role interleukiny 2 została wykazana zarówno w badaniach eksperymentalnych, jak i klinicznych. W mo-



delu eksperymentalnym wykazano, że IL-2 jest wydzielana przez limfocyty T dawcy w pierwszych dniach po alop przeszczepie i blokowanie tej cytokiny lub jej receptorów powoduje zahamowanie rozwoju aGvHD [125]. Klinicznie, badanie częstości prekursorów komórek wytwarzających IL-2 (pHTL) pozwala przewidzieć ryzyko wystąpienia tego powikłania [108]. Ponadto cyklosporyna, o której wiadomo, że jest inhibitorem wytwarzania IL-2, jest stosowana w profilaktyce aGvHD. W ostatnich latach udowodniono, że pomiar poziomu rozpuszczalnego receptora IL-2, może być użyty jako czynnik wczesnego rozpoznania aGvHD [21].

Wysoki poziom IFN- $\gamma$  jest związany z ostrą chorobą przeszczep przeciw gospodarzowi. Odnotowywano znacząco wyższe poziomy tej cytokiny u zwierząt, które rozwinęły aGvHD niż u pozostałych [23]. Ponadto IFN- $\gamma$  wpływa na wytwarzanie cytokin prozapalnych przez stymulowane lipopolisacharydami monocyty i makrofagi [90]. Działanie to jest odpowiedzialne za wysoką wrażliwość pacjentów po alop przeszczepie na endotoksyny bakteryjne.

### Faza 3. Efektorowy mechanizm zapalny

W fazie trzeciej kumulują się różne efekty cytotoksyczne. Komórki CTL (limfocyty T- cytotoksyczne - cytotoxic T lymphocytes), LGL (duże ziarniste limfocyty – large granular lymphocytes) i komórki NK (naturalne komórki cytotoksyczne – natural killer cells), przez swoje cytolytyczne działanie, bezpośrednio powodują uszkodzenie tkanek gospodarza i ich nekrozę.

Komórki biorcy ponownie wydzielają cytokiny prozapalne TNF- $\alpha$  i IL-1, jednak ich wydzielanie jest wywołane dodatkową stymulacją. Czynnikiem stymulującym może być LPS pochodzący z uszkodzonej zastosowaną terapią przed przeszczepem śluzówki np. jelita. Stymuluje on makrofagi jelitowe do wydzielania cytokin. Ponadto endotoksyna krążąc w organizmie przedostaje się do skóry, gdzie stymuluje keratynocyty, fibroblasty, makrofagi do dalszego wytwarzania cytokin. W ten sposób przewód pokarmowy może być podstawowym organem dla rozwoju „sztormu cytokinowego” charakterystycznego dla aGvHD. TNF- $\alpha$  bezpośrednio może powodować uszkodzenie tkanek przez indukcję nekrozy w komórkach docelowych lub w procesie apoptozy. Wytwarzanie mediatorów zapalenia może współdziałać z cytolytycznym działaniem komórek NK, CTL i LGL wzmagając lokalne uszkodzenie tkanek i dalszą odpowiedź zapalną.

Komórki CD4+ i CD8+ mogą się różnicować w dwie subpopulacje komórek T charakteryzujące się różnym profilem cytokin. Ma to duże znaczenie dla rozwoju choroby GvH. Jeżeli dominuje subpopulacja Th2 odpowiedź zapalna jest hamowana i tym samym nie dochodzi do rozwoju ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi [43,44,73], ponadto uwalniane przez subpopulację Th2 cytokiny IL-4 i IL-10, są związane z przewlekłą postacią choroby przeszczep przeciw gospodarzowi, odpowiedzią humoralną, wytwarzaniem przeciwciał IgE i IgG1.

Jordan i Ritter [67] wykazali, że badanie uwalnianych cytokin w mieszanej hodowli limfocytów i określenie przewagi

poszczególnych subpopulacji może być potencjalnie wykorzystane klinicznie do doboru optymalnego dawcy.

Ważnym czynnikiem wpływającym na rozwój i hamowanie aGvHD jest stosowanie immunosupresji. Leki immunosupresyjne mogą działać zarówno w fazie inicjacji: do nich należą – cyklosporyna, FK506 i rapamycyna, jak i w fazach późniejszych: kortykosteroidy oraz immunoglobuliny blokujące cząsteczki powierzchniowe na komórkach T zaangażowane w przekazywanie sygnałów.

### PRZEWLEKŁA CHOROBA PRZESZCZEP PRZECIW GOSPODARZOWI (cGvH)

Przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi jest jednym z najczęściej występujących powikłań pojawiających się w późnym okresie po przeszczepie komórek hematopoetycznych. cGvHD występuje u około 30-50% biorców przeszczepu [107]. Arbitralnie przyjmuje się, że symptomy cGvHD pojawiają się po około 100 dniach po alop przeszczepu, ale mogą się pojawić wcześniej lub później. U większości pacjentów przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi pojawia się jako kontynuacja aGvHD, ale może też wystąpić *de novo*, tzn. jako pierwszy kliniczny objaw niezgodności w układzie HLA [66]. Organami, w których najczęściej objawia się cGvHD są: skóra, oczy, usta, przewód pokarmowy, wątroba, rzadziej płuca, mięśnie [6]. Choroba ta może mieć przebieg ograniczony, jeżeli pojawia się w skórze i/lub wątrobie lub uogólniony, gdy ujawnia się w wielu organach.

Przewlekła choroba przeszczep przeciw gospodarzowi przypomina nakładanie się nasilonych w różnym stopniu chorób autoimmunologicznych (zespół Sjögrena, twardzina, liszaj, zapalenie skórno-mięśniowe, autoagresywne zapalenie wątroby) [71]. Przewlekła postać GvHD może spowodować zaburzenie odnowy immunologicznej i hematologicznej, co powoduje powikłania infekcyjne i hematologiczne [30].

Patogeneza cGvHD jest dwoistej natury. Po pierwsze, powoduje ją aloreaktywność pochodząca od komórek T dawcy leżąca u podstaw aGvHD i aloreaktywność wobec słabych antygenów zgodności tkankowej (minor MHC). Po drugie, wymykanie się limfocytów T spod kontroli uszkodzonej grasicy powoduje, że prekursorzy komórek T po przeszczepie szpiku mogą przechodzić nieprawidłową „edukację” w grasicy niezapewniającej autotolerancji [126].

### WPLYW POLIMORFIZMU GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY NA RYZYKO WYSTĄPIENIA POWIKŁAŃ PO PRZESZCZEPIENIU KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

W świetle badań nad wpływem polimorfizmu genów kodujących cytokiny na los pacjentów po przeszczepach narządów unaczynionych interesujące wydają się badania tego zagadnienia w przypadku przeszczepu komórek hematopoetycznych. Rozważano wpływ genotypu różnych cytokin początkowo u biorcy potem u dawcy na wystąpienie powikłań okołoprzeszczepowych.

## WPLYW POLIMORFIZMU GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY NA RYZYKO WYSTĄPIENIA OSTREJ CHOROBY PRZESZCZEP PRZECIW GOSPODARZOWI PO PRZESZCZEPIENIU KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

### Genotyp biorcy

Początkowe badania dotyczyły wpływu polimorfizmu mikrosatelitarnego TNFd i IL-10<sup>-1064</sup> na wystąpienie ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi [29]. Wykazano, że u pacjentów posiadających genotyp TNFd3/TNFd3 i IL-10.G (12–15 powtórzeń CA) częściej rozwijała się ciężka postać aGvHD po alop przeszczepie od dawcy rodziwego. Ryzyko ciężkiego aGvHD wzrastało jeszcze bardziej przy posiadaniu obu genotypów. Badania te potwierdziły się w dalszych pracach tego zespołu w alop przeszczepach [84]. Natomiast w przeszczepach z krwi pępowinowej niedobrych pod względem HLA nie wykazano takich zależności [72]. Genotypy te nie wpływają jednak na zwiększenie śmiertelności i na pojawienie się wznowy choroby podstawowej. Nie stwierdzono wpływu polimorfizmu TNFA w pozycji –308 na wystąpienie aGvHD [15]. W kolejnych badaniach [19,20] potwierdzono wcześniejsze doniesienia o polimorfizmie mikrosatelitarnym IL-10 w pozycji –1064 a dodatkowo stwierdzono brak wpływu polimorfizmu genu kodującego IL-10 w pozycji –1082 na pojawienie się tego powikłania.

Badania nad czynnikami ryzyka aGvHD wykazały, że genotyp IFN-gamma jest związany z wysokim ryzykiem aGvHD [19]. Ponadto wykazano silną, ale nieufną statystycznie zależność allelu IL-6 G+ i dużej podatności na to powikłanie [19].

Ostatnie doniesienia Socie i wsp. [109] mówią, że genotyp IL-10, zarówno dawcy jak i biorcy, jest czynnikiem ryzyka ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi. Natomiast występowanie miejsc polimorficznych w genach: *IL-6* (–174), *TNFA* (–308), *TNFA* (–238), *TNFB* (–252), *IFN* (+874) oraz polimorfizm TNFd zarówno u biorców jak i u dawców nie ma wpływu na występowanie aGvHD.

Prace naszego zespołu wskazywały na brak wpływu polimorfizmu TNFA w pozycji –308 na występowanie aGvHD [15]. Badanie wpływu polimorfizmu genu kodującego IL-10 na wystąpienie ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi w grupie przeszczepów rodzinnych wykazało, że genotyp IL-10 G+ biorcy jest związany ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia aGvHD>2 [68]. Prowadzone w naszym zespole badania wskazują na związek genotypu IFN 12 powtórzeń CA (co odpowiada obecności tymidyny w polimorficznej + 874 pozycji) z małym ryzykiem wystąpienia aGvHD [85].

### Genotyp dawcy

W pracy Middeltona i wsp. [84] oraz Caveta i wsp. [19] genotyp TNF dawcy: TNFd oraz TNFA w pozycji –308 jak i genotyp IL-10: mikrosatelitarny IL-10<sup>-1064</sup> i SNP w pozycji –1082 nie miał wpływu na wystąpienie aGvHD w stopniu wyższym niż II [72]. Nie znaleziono żadnych korelacji pomiędzy genotypem IFN i IL-6 u dawcy a wystąpieniem aGvHD. W przeciwieństwie do tych obserwacji Takahashi i wsp. [115] wykazali, że obecność allelu TNFA\*2 u daw-

cy przeszczepu była związana z podwyższonym ryzykiem aGvHD III i IV stopnia.

Wykazano korelację polimorfizmu mikrosatelitarnego genu kodującego antagonistę receptora IL-1 (IL-1Ra) u dawcy z ryzykiem aGvHD u biorcy alop przeszczepu [25].

Nasze badania wskazują na wpływ genotypu IL-6 u dawcy na wystąpienie aGvHD stopnia wyższego niż pierwszy u pacjentów po aloHSCT. Genotyp IL-6 GG dawcy jest związany z większym ryzykiem aGvHD [68]. Obserwowano również wpływ genotypu IL-10 dawcy na wystąpienie tego powikłania. Niższą częstość występowania aGvHD wykazywali pacjenci przeszczepieni od dawcy posiadającego allel IL-10 ACC+ [68].

Wieloczynnikowa analiza (model regresji logitowej) potwierdziła znaczenie genotypu IL-10 G+ biorcy jako czynnika zwiększającego ryzyko aGvHD oraz genotypu IL-6 C+ dawcy jako czynnika zmniejszającego ryzyko wystąpienia tej choroby [68].

## WPLYW POLIMORFIZMU GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY NA RYZYKO WYSTĄPIENIA PRZEWLEKŁEJ CHOROBY PRZESZCZEP PRZECIW GOSPODARZOWI PO PRZESZCZEPIENIU KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

Analogicznie jak dla ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi, badano wpływ SNP i polimorfizmu mikrosatelitarnego genów kodujących TNF i IL-10 (TNFd i TNFA –308 (A/G), IL-10<sup>-1064</sup> i IL-10<sup>-1082</sup> (G/A)) na wystąpienie jej przewlekłej postaci (cGvH) [20]. Nie stwierdzono wpływu żadnego z genotypów dawcy i biorcy na wystąpienie tej choroby. W przeciwieństwie do doniesień poprzednich autorów, Takahashi i wsp. [115] stwierdzili, że cGvH występuje częściej u pacjentów, którzy otrzymali przeszczep od dawcy posiadającego allele zawierające większą liczbę powtórzeń CA w pozycji –1064 w genie kodującym IL-10. W dalszych badaniach Caveta i wsp. [19] rozważano inne czynniki ryzyka przewlekłej postaci choroby przeszczep przeciw gospodarzowi. Analiza wykazała, że wśród czynników zwiększających ryzyko cGvH znaczenie ma polimorfizm genu kodującego IL-6 (genotyp IL-6 GG biorcy i w mniejszym stopniu IL-6 GG dawcy). Doniesienia dotyczące wpływu genotypu IL-6 biorcy zostały potwierdzone przez Socie i wsp. [109]. W pracy tej wykazano, że czynnikiem ryzyka cGvH był genotyp IL-6 G+ biorcy, jednak nie potwierdzono wpływu genotypu dawcy przeszczepu.

Analiza przeprowadzona w naszym zespole wykazała korelację genotypu IFN- $\gamma$  mikrosatelitarnego (13 powtórzeń) biorcy ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia przewlekłej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi [85]. Natomiast Cavet i wsp. [19] nie obserwowali takiej zależności.

W badanej przez nasz zespół grupie pacjentów przeprowadzono wieloczynnikową analizę czynników ryzyka wystąpienia przewlekłej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi. Wskazała ona na istotne znaczenie dla zwiększenia tego ryzyka jednoczesnego posiadania przez biorcę genotypu IL-6 GG i allelu IL-10 ACC+, natomiast genotyp IL-6 GG dawcy i genotyp IFN- $\gamma$  T+ (12 powtórzeń CA) biorcy zmniejszają ryzyko wystąpienia tego powikłania [68].



## WPLYW POLIMORFIZMU GENÓW KODUJĄCYCH CYTOKINY NA WYSTĄPIENIE POWIKŁAŃ TOKSYCZNYCH WYWOŁANYCH UWARUNKOWANIEM PRZESZCZEPU PO PRZESZCZEPNIENIU KOMÓREK HEMATOPOETYCZNYCH

W pracach naszego zespołu wykazano wpływ genotypu IL-6 i IL-10 biorcy na podatność na wystąpienie powikłań toksycznych III i IV stopnia związanych z uwarunkowaniem przeszczepu. Zaobserwowano, że genotyp IL-6 CC biorcy jest związany ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia tego powikłania, jest to najbardziej widoczne w grupie pacjentów poddanych standardowemu uwarunkowaniu przeszczepu (Bu+Cy±ATG). Genotyp IL-10 ACC/ACC biorcy jest związany ze zmniejszoną podatnością na wystąpienie powikłań toksycznych III i IV stopnia. Wieloczynnikowa analiza ryzyka tych powikłań przeprowadzona metodą regresji logitowej wykazała, że uwarunkowanie mieloablacyjne zwiększa ryzyko wystąpienia ciężkich powikłań toksycznych, natomiast genotyp IL-10 ACC/ACC biorcy zmniejsza to ryzyko [68].

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Abdallah A.N., Boiron J.M., Attia Y., Cassaigne A., Reiffers J., Iron A.: Plasma cytokines in graft vs host disease and complications following bone marrow transplantation. *Hematol. Cell Ther.*, 1997; 39: 27–32
- [2] Abraham L.J., French M.A., Dawkins R.L.: Polymorphic MHC ancestral haplotypes affect the activity of tumour necrosis factor- $\alpha$ . *Clin. Exp. Immunol.*, 1993; 92: 14–18
- [3] Alvarez V., Mata I.F., Gonzalez P., Lahoz C.H., Martinez C., Pena J., Guisasaola L.M., Coto E.: Association between the TNF $\alpha$ -308 A/G polymorphism and the onset-age of Alzheimer disease. *Am. J. Med. Genet.*, 2002; 114: 574–577
- [4] Asadullah K., Eskdale J., Wiese A., Gallagher G., Friedrich M., Sterry W.: Interleukin-10 promoter polymorphism in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 2001; 116: 975–978
- [5] Asderakis A., Sankaran D., Dyer P., Johnson R.W., Pravica V., Sinnott P.J., Roberts I., Hutchinson I.V.: Association of polymorphisms in the human interferon-gamma and interleukin-10 gene with acute and chronic kidney transplant outcome: the cytokine effect on transplantation. *Transplantation*, 2001; 71: 674–677
- [6] Atkinson K.: Chronic graft- versus -host disease. *Bone Marrow Transplantation* (eds. Forman S.J., Blume K., Thomas E.D.), Blackwell Scientific Publications, 1994
- [7] Awad M.R., Webber S., Boyle G., Sturchio C., Ahmed M., Martell J., Law Y., Miller S.A., Bowman P., Gribar S., Pigula F., Mazariegos G., Griffith B.P.: The effect of cytokine gene polymorphisms on pediatric heart allograft outcome. *J. Heart Lung Transplant.*, 2001; 20: 625–630
- [8] Awata T., Matsumoto C., Urakami T., Hagura R., Amemiya S., Kanazawa Y.: Association of polymorphism in the interferon gamma gene with IDDM. *Diabetologia*, 1994; 37: 1159–1162
- [9] Azzawi M., Hasleton P.S., Turner D.M., Yonan N., Deiraniya A.K., Sinnott P.J., Hutchinson I.V.: Tumor necrosis factor- $\alpha$  gene polymorphism and death due to acute cellular rejection in a subgroup of heart transplant recipients. *Hum. Immunol.*, 2001; 62: 140–142
- [10] Bagli M., Papassotiropoulos A., Knapp M., Jessen F., Luise Rao M., Maier W., Heun R.: Association between an interleukin-6 promoter and 3' flanking region haplotype and reduced Alzheimer's disease risk in a German population. *Neurosci. Lett.*, 2000; 283: 109–112
- [11] Bathgate A.J., Pravica V., Perrey C., Hayes P.C., Hutchinson I.V.: Polymorphisms in tumour necrosis factor alpha, interleukin-10 and transforming growth factor beta 1 genes and end-stage liver disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2000; 12: 1329–1333
- [12] Bijlsma F.J., van der Horst A.A., Tilanus M.G., Rozemuller E., de Jonge N., Gmelig-Meyling F.H., de Weger R.A.: No association between transforming growth factor beta gene polymorphism and acute allograft rejection after cardiac transplantation. *Transpl. Immunol.*, 2002; 10: 43–47
- [13] Billingham R.E.: The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.*, 1966–67; 62: 21–78
- [14] Blankenstein T., Volk H.-D., Techert-Jendrusch C., Qin Z.H., Richter G., Diamantstein T.: Lack of correlation between BgIII RFLP in the human interleukin 6 gene and rheumatoid arthritis. *Nucleic Acids Res.*, 1989; 17: 8902
- [15] Bogunia-Kubik K., Polak M., Lange A.: TNF polymorphisms are associated with toxic but not aGvHD complications in the recipients of allogeneic sibling haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 2003; 32: 617–622
- [16] Bouma G., Crusius J.B., Oudkerk Pool M., Kolkman J.J., von Blomberg B.M., Kostense P.J., Giphart M.J., Schreuder G.M., Meuwissen S.G., Pena A.S.: Secretion of tumour necrosis factor alpha and lymphotoxin alpha in relation to polymorphisms in the TNF genes and HLA-DR alleles. Relevance for inflammatory bowel disease. *Scand. J. Immunol.*, 1996; 43: 456–463
- [17] Bream J.H., Carrington M., O'Toole S., Dean M., Gerrard B., Shin H.D., Kosack D., Modi W., Young H.A., Smith M.W.: Polymorphisms of human IFNG gene noncoding regions. *Immunogenetics*, 2000; 51: 50–58
- [18] Cartwright N., Demaine A., Jahromi M., Sanders H., Kamiński E.R.: A study of cytokine protein secretion, frequencies of cytokine expressing cells and IFN-G gene polymorphisms in normal individuals. *Transplantation*, 1999; 68: 1546–1552
- [19] Cavet J., Dickinson A.M., Norden J., Taylor P.R., Jackson G.H., Middleton P.G.: Interferon-gamma and interleukin-6 gene polymorphisms associate with graft-versus-host disease in HLA-matched sibling bone marrow transplantation. *Blood*, 2001; 98: 1594–1600
- [20] Cavet J., Middleton P.G., Segall M., Noreen H., Davies S.M., Dickinson A.M.: Recipient tumor necrosis factor- $\alpha$  and interleukin-10 gene polymorphisms associate with early mortality and acute graft-versus-host disease severity in HLA-matched sibling bone marrow transplants. *Blood*, 1999; 94: 3941–3946
- [21] Chang D.M., Wang C.J., Kuo S.Y., Lai J.H.: Cell surface markers and circulating cytokines in graft versus host disease. *Immunol. Invest.*, 1999; 28: 77–86
- [22] Chelivard C., Moukoko C.E., Elwali N.-E. M.A., Bream J.H., Kouriba B., Arigo L., Rahoud S., Mergani A., Henri S., Gaudart J., Mahomed-Ali Q., Young H., Dessein A.: IFNg Polymorphism (IFNg +2109 and IFNg +3810) are associated with Severe Hepatic Fibrosis in Human Hepatic Schistosomiasis (schistoma mansoni). *J. Immunol.*, 2003; 171: 5596–5601
- [23] Cooke K.R.: Mechanism of Inflammation in GvHD target Organs. *EBMT Educational Book*, 2001; 84–89
- [24] Crawley E., Kay R., Sillibourne J., Patel P., Hutchinson I., Woo P.: Polymorphic haplotypes of the interleukin-10 5' flanking region determine variable interleukin-10 transcription and are associated with particular phenotypes of juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 1999; 42: 1101–1108

- [25] Cullup H., Dickinson A.M., Jackson G.H., Taylor P.R., Cavet J., Middleton P.G.: Donor interleukin 1 receptor antagonist genotype associated with acute graft-versus-host disease in human leucocyte antigen-matched sibling allogeneic transplants. *Br. J. Haematol.*, 2001; 113: 807–813
- [26] De Jong B.A., Westendorp R.G.J., Eskdale J., Uitendhaag B.M.J., Huizinga T.J.: Frequency of functional interleukin-10 promoter polymorphism is different between relapse-onset and primary progressive multiple sclerosis. *Hum. Immunol.*, 2002; 63: 281–285
- [27] Deeg H.J.: Early and late complications of bone marrow transplantation. *Curr. Opin. Oncol.*, 1990; 2: 297–307
- [28] Dickinson A.M., Cavet J., Cullup H., Wang X.N., Jarvis M., Sviland L., Middleton P.G.: Predicting outcome in hematological stem cell transplantation. *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 2002; 50: 371–378
- [29] Dickinson A.M., Middleton P.G.: Predicting outcome in allogeneic stem cell transplantation and a predictive human skin explant model for graft versus host disease. *Hum. Immunol.*, 2000; 61: 1–4
- [30] Dłubek D.: Charakterystyka komórek jednojądrowych krwi obwodowej mających znaczenie rokownicze w chorobie przeszczep przeciw gospodarzowi. Rozprawa doktorska, IITD PAN, Wrocław, 1999
- [31] Eissner G., Lindner H., Behrends U., Kolch W., Hieke A., Klauke I., Bornkamm G.W., Holler E.: Influence of bacterial endotoxin on radiation-induced activation of human endothelial cells in vitro and in vivo: protective role of IL-10. *Transplantation*, 1996; 62: 819–827
- [32] El-Gamel A., Awad M.R., Hasleton P.S., Yonan N.A., Hutchinson J.A., Campbell C.S., Rahman A.H., Deiraniya A.K., Sinnott P.J., Hutchinson I.V.: Transforming growth factor-beta (TGF-beta1) genotype and lung allograft fibrosis. *J. Heart Lung Transplant.*, 1999; 18: 517–523
- [33] Eskdale J., Gallagher G.: A polymorphic dinucleotide repeat in the human IL-10 promoter. *Immunogenetics*, 1995; 42: 444–445
- [34] Eskdale J., Keijsers V., Huizinga T., Gallagher G.: Microsatellite alleles and single nucleotide polymorphisms (SNP) combine to form four major haplotype families at the human interleukin-10 (IL-10) locus. *Genes Immun.*, 1999; 1: 151–155
- [35] Eskdale J., Kube D., Gallagher G.: A second polymorphic dinucleotide repeat in the 5' flanking region of the human IL10 gene. *Immunogenetics*, 1996; 45: 82–83
- [36] Eskdale J., McNicholl J., Wordsworth P., Jonas B., Huizinga T., Field M., Gallagher G.: Interleukin-10 microsatellite polymorphisms and IL-10 locus alleles in rheumatoid arthritis susceptibility. *Lancet*, 1998; 352: 1282–1283
- [37] Eskdale J., Wordsworth P., Bowman S., Field M., Gallagher G.: Association between polymorphism at the human IL-10 locus and systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens*, 1997; 49: 635–639
- [38] Fernandes H., Koneru B., Fernandes N., Hameed M., Cohen M.C., Raveche E., Cohen S.: Investigation of promoter polymorphisms in the tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 genes in liver transplant patients. *Transplantation*, 2002; 73: 1886–1891
- [39] Fernandez-Real J.M., Broch M., Vendrell J., Gutierrez C., Casamitjana R., Pugeat M., Richart C., Ricart W.: Interleukin-6 gene polymorphism and insulin sensitivity. *Diabetes*, 2000; 49: 517–520
- [40] Fernandez-Real J.M., Broch M., Vendrell J., Richart C., Ricart W.: Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; 85: 1334–1339
- [41] Ferrara J.L., Cooke K.R., Pan L., Krenger W.: The immunopathophysiology of acute graft-versus-host-disease. *Stem Cells*, 1996; 14: 473–489
- [42] Fishman D., Faulds G., Jeffery R., Mohamed-Ali V., Yudkin J.S., Humphries S., Woo P.: The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6 (IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *J. Clin. Invest.*, 1998; 102: 1369–1376
- [43] Fowler D.H., Gress R.E.: Th2 and Tc2 cells in the regulation of GVHD, GVL, and graft rejection: considerations for the allogeneic transplantation therapy of leukemia and lymphoma. *Leuk. Lymphoma*, 2000; 38: 221–234
- [44] Fowler D.H., Kurasawa K., Smith R., Eckhaus M.A., Gress R.E.: Donor CD4-enriched cells of Th2 cytokine phenotype regulate graft-versus-host disease without impairing allogeneic engraftment in sublethally irradiated mice. *Blood*, 1994; 84: 3540–3549
- [45] Fugger L., Morling N., Bendtzen K., Ryder L., Odum N., Georgsen J., Svejgaard A.: MspI polymorphism in the human interleukin 6 (IL 6) gene. *Nucleic Acids Res.*, 1989; 17(11): 4419
- [46] Gajewski W.: Mutagenеза, рерасаја і рекомбінасја DNA. *Genetyka Molekularna* (red. Węgliński P.), Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 1995; 248–279
- [47] Gibson A.W., Edberg J.C., Wu J., Westendorp R.G., Huizinga T.W., Kimberly R.P.: Novel single nucleotide polymorphisms in the distal IL-10 promoter affect IL-10 production and enhance the risk of systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.*, 2001; 166: 3915–3922
- [48] Giedraitis V., He B., Hillert J.: Mutation screening of the interferon-gamma gene as a candidate gene for multiple sclerosis. *Eur. J. Immunogenet.*, 1999; 26: 257–259
- [49] Goris A., Epplen C., Fiten P., Andersson M., Murru R., Sciacca F.L., Ronsse I., Jackel S., Epplen J.T., Marrosu M.G., Olsson T., Grimaldi L.M., Opendakker G., Billiau A., Vandenbroeck K.: Analysis of an IFN-gamma gene (IFNG) polymorphism in multiple sclerosis in Europe: effect of population structure on association with disease. *J. Interferon Cytokine Res.*, 1999; 19: 1037–1046
- [50] Górski A.: The role of cell adhesion molecules in immunopathology. *Immunol. Today*, 1994; 15: 321
- [51] Hajeer A.H., Dababneh A., Makki R.F., Thomson W., Poulton K., Gonzalez-Gay M.A., Garcia-Porrúa C., Matvey D.L., Ollier W.E.: Different gene loci within the HLA-DR and TNF regions are independently associated with susceptibility and severity in Spanish rheumatoid arthritis patients. *Tissue Antigens*, 2000; 55: 319–325
- [52] Hajeer A.H., Hutchinson I.V.: Influence of TNF gene polymorphisms on TNF production and disease. *Hum. Immunol.*, 2001; 62: 1191–1199
- [53] Hajeer A.H., Lazarus M., Turner D., Mageed R.A., Vencovsky J., Sinnott P., Hutchinson I.V., Ollier W.E.: IL-10 gene promoter polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Scand. J. Rheumatol.*, 1998; 27: 142–146
- [54] Hajeer A.H., Worthington J., Davies E.J., Hillarby M.C., Poulton K., Ollier W.E.: TNF microsatellite a2, b3 and d2 alleles are associated with systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens*, 1997; 49: 222–227
- [55] Hill G.R., Crawford J.M., Cooke K.R., Brinson Y.S., Pan L., Ferrara J.L.: Total body irradiation and acute graft-versus-host disease: the role of gastrointestinal damage and inflammatory cytokines. *Blood*, 1997; 90: 3204–3213
- [56] Holler E.: Cytokines, viruses, and graft-versus-host disease. *Curr. Opin. Hematol.*, 2002; 9: 479–484
- [57] Holler E., Kolb H.J., Mittermuller J., Kaul M., Ledderose G., Duell T., Seeber B., Schleuning M., Hintermeier-Knabe R., Ertl B.: Modulation of acute graft-versus-host-disease after allogeneic bone marrow transplantation by tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) release in the course of pretransplant conditioning: role of conditioning regimens and prophylactic application of a monoclonal antibody neutralizing human TNF alpha (MAK 195F). *Blood*, 1995; 86: 890–899
- [58] Holler E., Kolb H.J., Moller A., Kempeni J., Liesenfeld S., Pechumer H., Lehmann W., Ruckdeschel G., Gleixner B., Riedner C. i wsp.: Increased serum levels of tumor necrosis factor alpha precede major complications of bone marrow transplantation. *Blood*, 1990; 15: 1011–1106
- [59] Holweg C.T., Baan C.C., Balk A.H., Niesters H.G., Maat A.P., Mulder P.M., Weimar W.: The transforming growth factor-beta1 codon 10 gene polymorphism and accelerated graft vascular disease after clinical heart transplantation. *Transplantation*, 2001; 71: 1463–1467
- [60] Huang D., Zheng C., Giscombe R., Matell G., Pirskanen R., Lefvert A.K.: Polymorphisms at -174 and in the 3' flanking region of interleukin-6 (IL-6) gene in patients with myasthenia gravis. *J. Neuroimmunol.*, 1999; 101: 197–200
- [61] Huizinga T.W., Westendorp R.G., Bollen E.L., Keijsers V., Brinkman B.M., Langermans J.A., Breedveld F.C., Verweij C.L., van de Gaer L., Dams L., Crusius J.B., Garcia-Gonzalez A., van Oosten B.W., Polman C.H., Pena A.S.: TNF-alpha promoter polymorphisms, production and susceptibility to multiple sclerosis in different groups of patients. *J. Neuroimmunol.*, 1997; 72: 149–153
- [62] Hutchinson I.V., Pravica V., Sinnott P.J.: Genetic regulation of cytokine synthesis: Consequences for acute and chronic organ allograft rejection. *Graft*, 1998; 5: 186–192
- [63] Imamura M., Hashino S., Kobayashi H., Kubayashi S., Hirano S., Minagawa T., Tanaka J., Fujii Y., Kobayashi M., Kasai M. i wsp.: Serum cytokine levels in bone marrow transplantation: synergistic interaction of interleukin-6, interferon-gamma, and tumor necrosis factor-alpha in graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.*, 1994; 13: 745–751
- [64] Iwasaki H., Ota N., Nakajima T., Shinohara Y., Kodaira M., Kajita M., Emi M.: Five novel single-nucleotide polymorphisms of human interferon gamma identified by sequencing the entire gene. *J. Hum. Genet.*, 2001; 46: 32–34



- [65] Jahromi M., Millward A., Demaine A.: A CA repeat polymorphism of the IFN-gamma gene is associated with susceptibility to type 1 diabetes. *J. Interferon Cytokine Res.*, 2000; 20: 187–190
- [66] Janin A.: Graft versus host disease. In: *Blood and Marrow Transplantation*, European School of Haematology, Paris, 1998; 124
- [67] Jordan W.J., Ritter M.A.: Optimal analysis of composite cytokine responses during alloreactivity. *J. Immunol. Methods*, 2002; 1: 1–14
- [68] Karabon L.: Związek pomiędzy polimorfizmem genów kodujących IL-6 i IL-10 u biorców i dawców przeszczepu komórek hematopoetycznych a podatnością na toksyczność chemioterapii przeszczepowej i wystąpienia ostrej choroby przeszczep przeciw gospodarzowi (aGVHD). Rozprawa doktorska, IITD PAN, Wrocław, 2003
- [69] Karabon L., Moniewska A., Laba A., Swider C., Lange A.: IL-6 is present in sera of bone marrow-transplanted patients in aplastic period and high levels of IL-6 during acute graft-versus-host disease are associated with severe gut symptoms. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1995; 21: 439–442
- [70] Kelso A.: Cytokines: Principles and prospects. *Immunol. and Cell Biology*, 1998; 76: 300–317
- [71] Klimczak A.: Immunopatologia zespołu Sjögrena i zmian narządowych w reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi. Rozprawa doktorska, IITD PAN, Wrocław, 1996
- [72] Kogler G., Middleton P.G., Wilke M., Rocha V., Esendam B., Enczmann J., Wernet P., Gluckman E., Querol S., Lecchi L., Goulmy E., Dickinson A.M.: Recipient cytokine genotypes for TNF-alpha and IL-10 and the minor histocompatibility antigens HY and CD31 codon 125 are not associated with occurrence or severity of acute GVHD in unrelated cord blood transplantation: a retrospective analysis. *Transplantation*, 2002; 74: 1167–1175
- [73] Krenger W., Snyder K., Smith S., Ferrara J.L.: Effects of exogenous interleukin-10 in a murine model of graft-versus-host disease to minor histocompatibility antigens. *Transplantation*, 1994; 58: 1251–1257
- [74] Kube D., Rieth H., Eskdale J., Kremsner P.G., Gallagher G.: Structural characterisation of the distal 5' flanking region of the human interleukin-10 gene. *Genes Immun.*, 2001; 2: 181–190
- [75] Lange A.: Immunologia transplantacyjna. *Immunologia Kliniczna* (red. M. Kowalski), Mediton, Łódź, 2000
- [76] Lange A., Karabon L., Klimczak A., Dłubek D., Bogunia-Kubik K., Swider C., Suchnicki K.: Serum interferon-gamma and C-reactive protein levels as predictors of acute graft-vs-host disease in allogeneic hematopoietic precursor cell (marrow or peripheral blood progenitor cells) recipients. *Transplant. Proc.*, 1996; 28: 3522–3525
- [77] Lazarus M., Hajeer A.H., Turner D., Sinnott P., Worthington J., Ollier W.E., Hutchinson I.V.: Genetic variation in the interleukin 10 gene promoter and systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.*, 1997; 24: 2314–2317
- [78] Linker-Israeli M., Wallace D.J., Prehn J., Michael D., Honda M., Taylor K.D., Paul-Labrador M., Fischel-Ghodsian N., Fraser P.A., Klinenberg J.R.: Association of IL-6 gene alleles with systemic lupus erythematosus (SLE) and with elevated IL-6 expression. *Genes Immun.*, 1999; 1: 45–52
- [79] Louis E., Franchimont D., Piron A., Gevaert Y., Schaaf-Lafontaine N., Roland S., Mahieu P., Malaise M., De Groote D., Louis R., Belaiche J.: Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clin. Exp. Immunol.*, 1998; 113: 401–406
- [80] Marshall S.E., McLaren A.J., McKinney E.F., Bird T.G., Haldar N.A., Bunce M., Morris P.J., Welsh K.I.: Donor cytokine genotype influences the development of acute rejection after renal transplantation. *Transplantation*, 2001; 71: 469–476
- [81] Martinez A., Fernandez-Arquero M., Pascual-Salcedo D., Conejero L., Alves H., Balsa A., de la Concha E.G.: Primary association of tumor necrosis factor-region genetic markers with susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2000; 43: 1366–1370
- [82] Martinez Doncel A., Rubio A., Arroyo R., de las Heras V., Martin C., Fernandez-Arquero M., de la Concha E.G.: Interleukin-10 polymorphisms in Spanish multiple sclerosis patients. *J. Neuroimmunol.*, 2002; 131: 168–172
- [83] Maurer M., Kruse N., Giess R., Toyka K.V., Rieckmann P.: Genetic variation at position -1082 of the interleukin 10 (IL10) promoter and the outcome of multiple sclerosis. *J. Neuroimmunol.*, 2000; 104: 98–100
- [84] Middleton P.G., Taylor P.R., Jackson G., Proctor S.J., Dickinson A.M.: Cytokine gene polymorphisms associating with severe acute graft-versus-host disease in HLA-identical sibling transplants. *Blood*, 1998; 15: 3943–3948
- [85] Młynarczewska A., Wysoczańska B., Bogunia-Kubik K., Karabon L., Lange A.: IFN gamma 3/3 genotype associated with decreased IFN – gamma production as a risk factor of chronic GVHD in recipients of allogeneic haematopoietic stem cell transplants. *Bone Marrow Transpl.*, 2004; 33(Suppl.1): 74
- [86] Mok C.C., Lanchbury J.S., Chan D.W., Lau C.S.: Interleukin-10 promoter polymorphisms in Southern Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 1998; 41: 1090
- [87] Monos D.S., Kamoun M., Udalova I.A., Csanky E., Cizman B., Turetskaya R.L., Smirnova J.B., Zharkov V.G., Gasser D., Żmijewski C.M. i wsp.: Genetic polymorphism of the human tumor necrosis factor region in insulin-dependent diabetes mellitus. Linkage disequilibrium of TNFab microsatellite alleles with HLA haplotypes. *Hum. Immunol.*, 1995; 44: 70–79
- [88] Murray R.E., McGuigan F., Grant S.F., Reid D.M., Ralston S.H.: Polymorphisms of the interleukin-6 gene are associated with bone mineral density. *Bone*, 1997; 21: 89–92
- [89] Mycko M., Kowalski W., Kwinkowski M., Buenafe A.C., Szymańska B., Tronczyńska E., Plucienniczak A., Selmaj K.: Multiple sclerosis: the frequency of allelic forms of tumor necrosis factor and lymphotoxin-alpha. *J. Neuroimmunol.*, 1998; 84: 198–206
- [90] Nestel F.P., Price K.S., Seemayer T.A., Lapp W.S.: Macrophage priming and lipopolysaccharide-triggered release of tumor necrosis factor alpha during graft-versus-host disease. *J. Exp. Med.*, 1992; 1: 405–413
- [91] Nevill T.J., Barnett M.J., Klingemann H.G., Reece D.E., Shepherd J.D., Phillips G.L.: Regimen-related toxicity of a busulfan-cyclophosphamide conditioning regimen in 70 patients undergoing allogeneic bone marrow transplantation. *J. Clin. Oncol.*, 1991; 9: 1224–1232
- [92] Olomolaiye O., Wood N.A., Bidwell J.L.: A novel NlaIII polymorphism in the human IL-6 promoter. *Eur. J. Immunogenet.*, 1998; 25: 267
- [93] Parkes M., Satsangi J., Jewell D.: Contribution of the IL-2 and IL-10 genes to inflammatory bowel disease (IBD) susceptibility. *Clin. Exp. Immunol.*, 1998; 113: 28–32
- [94] Petersen F., Bearman S.: Preparative regimens and their toxicity. *Bone Marrow Transplantation* (Eds.: Forman S.J., Blume K., Thomas E.D.), Blackwell Scientific Publications, 1994
- [95] Pignatti P., Vivarelli M., Meazza C., Rizzolo M.G., Martini A., De Benedetti F.: Abnormal regulation of interleukin 6 in systemic juvenile idiopathic arthritis. *J. Rheumatol.*, 2001; 28: 1670–1676
- [96] Pociot F., Molvig J., Wogensae H., Dalboge H., Baek L., Nerup J.: A tumour necrosis factor beta gene polymorphism in relation to monokine secretion and insulin-dependent diabetes mellitus. *Scand. J. Immunol.*, 1991; 33: 37–49
- [97] Pociot F., Vejjola R., Johannesen J., Hansen P.M., Lorenzen T., Karlsen A.E., Reijonen H., Knip M., Nerup J.: Analysis of an interferon-gamma gene (IFNG) polymorphism in Danish and Finnish insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) patients and control subjects. Danish Study Group of Diabetes in Childhood. *J. Interferon Cytokine Res.*, 1997; 17: 87–93
- [98] Pola R., Flex A., Gaetani E., Lago A.D., Gerardino L., Pola P., Bernabei R.: The -74 G/C polymorphism of the interleukin-6 gene promoter is associated with Alzheimer's disease in an Italian population. *Neuroreport*, 2002; 13: 1645–1647
- [99] Pravica V., Perrey C., Stevens A., Lee J.H., Hutchinson I.V.: A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Hum. Immunol.*, 2000; 61: 863–866
- [100] Przepiórka D., Weisdorf D., Martin P., Klingemann H.G., Beatty P., Hows J., Thomas E.D.: Consensus Conference on Acute GVHD Grading. *Bone Marrow Transplant.*, 1995; 15: 825–828
- [101] Reich K., Westphal G., Schulz T., Muller M., Zipprich S., Fuchs T., Hallier E., Neumann C.: Combined analysis of polymorphisms of the tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 promoter regions and polymorphic xenobiotic metabolizing enzymes in psoriasis. *J. Invest. Dermatol.*, 1999; 113: 214–220
- [102] Remberger M., Ringden O., Markling L.: TNF alpha levels are increased during bone marrow transplantation conditioning in patients who develop acute GVHD. *Bone Marrow Transplant.*, 1995; 15: 99–104
- [103] Robak T.: *Biologia i farmakologia cytokin*. PWN, Łódź, 1995
- [104] Roh J.W., Kim M.H., Seo S.S., Kim S.H., Kim J.W., Park N.H., Song Y.S., Park S.Y., Kang S.B., Lee H.P.: Interleukin-10 promoter polymorphisms and cervical cancer risk in Korean women. *Cancer Lett.*, 2002; 184: 57–63

- [105] Sakata N., Yasui M., Okamura T., Inoue M., Yumura-Yagi K., Kawa K.: Kinetics of plasma cytokines after hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors: the ratio of plasma IL-10/sTNFR level as a potential prognostic marker in severe acute graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant.*, 2001; 27: 1153–1161
- [106] Sankaran D., Asderakis A., Ashraf S., Roberts I.S., Short C.D., Dyer P.A., Sinnott P.J., Hutchinson I.V.: Cytokine gene polymorphisms predict acute graft rejection following renal transplantation. *Kidney Int.*, 1999; 56: 281–288
- [107] Scheafer U.W., Beelen D.: *Complication of bone marrow transplantation. Bone Marrow Transplantation – 2* [nd, revised edition, Karger, Freiburg-Basel, 1996
- [108] Schwarer A.P., Jiang Y.Z., Brookes P.A., Barrett A.J., Batchelor J.R., Goldman J.M., Lechler R.I.: Frequency of anti-recipient alloreactive helper T-cell precursors in donor blood and graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone-marrow transplantation. *Lancet*, 1993; 23: 203–205
- [109] Socie G., Loiseau P., Tamouza R., Janin A., Busson M., Gluckman E., Charron D.: Both genetic and clinical factors predict the development of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation*, 2001; 72: 699–706
- [110] Stuber F., Petersen M., Bokelmann F., Schade U.: A genomic polymorphism within the tumor necrosis factor locus influences plasma tumor necrosis factor-alpha concentrations and outcome of patients with severe sepsis. *Crit. Care Med*, 1996; 24: 381–384
- [111] Summers A.M., Summers C.W., Drucker D.B., Hajeer A.H., Barson A., Hutchinson I.V.: Association of IL-10 genotype with sudden infant death syndrome. *Hum. Immunol.*, 2000; 61: 1270–1273
- [112] Świder C., Lange A.: TNFA\*2 and TNFB\*1 alleles are associated with high level of TNF-alpha and TNF-beta mRNA in sarcoidosis. *Hum. Immunol.*, 2000; 61: 135
- [113] Świder C., Schnittger L., Bogunia-Kubik K., Gerdes J., Flad H., Lange A., Seitzer U.: TNF-alpha and HLA-DR genotyping as potential prognostic markers in pulmonary sarcoidosis. *Eur. Cytokine Netw.*, 1999; 10: 143–146
- [114] Tagore A., Gonsalkorale W.M., Pravica V., Hajeer A.H., McMahon R., Whorwell P.J., Sinnott P.J., Hutchinson I.V.: Interleukin-10 (IL-10) genotypes in inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens*, 1999; 54: 386–390
- [115] Takahashi H., Furukawa T., Hashimoto S., Suzuki N., Kuroha T., Yamazaki F., Inano K., Takahashi M., Aizawa Y., Koike T.: Contribution of TNF-alpha and IL-10 gene polymorphisms to graft-versus-host disease following allo-hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 2000; 26: 1317–1323
- [116] Takatsuka H., Takemoto Y., Okamoto T., Fujimori Y., Tamura S., Wada H., Okada M., Yamada S., Kanamaru A., Kakishita E.: Predicting the severity of graft-versus-host disease from interleukin-10 levels after bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 1999; 24: 1005–1007
- [117] Tambur A.R., Ortelgel J.W., Ben-Ari Z., Shabtai E., Klein T., Michowiz R., Tur-Kaspa R., Mor E.: Role of cytokine gene polymorphism in hepatitis C recurrence and allograft rejection among liver transplant recipients. *Transplantation*, 2001; 71: 1475–1480
- [118] Tarassi K., Carthy D., Papasteriades C., Boki K., Nikolopoulou N., Carcassi C., Ollier W.E., Hajeer A.H.: HLA-TNF haplotype heterogeneity in Greek SLE patients. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1998; 16: 66–68
- [119] Terry C.F., Loukaci V., Green F.R.: Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 18138–18144
- [120] Tsukamoto K., Yoshida H., Watanabe S., Suzuki T., Miyao M., Hosoi T., Orimo H., Emi M.: Association of radial bone mineral density with CA repeat polymorphism at the interleukin 6 locus in postmenopausal Japanese women. *J. Hum. Genet.*, 1999; 44: 148–151
- [121] Turner D., Grant S.C., Yonan N., Sheldon S., Dyer P.A., Sinnott P.J., Hutchinson I.V.: Cytokine gene polymorphism and heart transplant rejection. *Transplantation*, 1997; 64: 776–779
- [122] Turner D.M., Grant S.C., Lamb W.R., Brenchley P.E., Dyer P.A., Sinnott P.J., Hutchinson I.V.: A genetic marker of high TNF-alpha production in heart transplant recipients. *Transplantation*, 1995; 60: 1113–1117
- [123] Turner D.M., Williams D.M., Sankaran D., Lazarus M., Sinnott P.J., Hutchinson I.V.: An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur. J. Immunogenet.*, 1997; 24: 1–8
- [124] Udalova I.A., Nedospasov S.A., Webb G.C., Chaplin D.D., Turetskaya R.L.: Highly informative typing of the human TNF locus using six adjacent polymorphic markers. *Genomics*, 1993; 16: 180–186
- [125] Via C.S., Finkelman F.D.: Critical role of interleukin-2 in the development of acute graft-versus-host disease. *Int. Immunol.*, 1993; 5: 565–572
- [126] Vogelsang G.B.: How I treat chronic graft-versus-host disease. *Blood*, 2001; 97: 1196–2001
- [127] Wilson A.G., di Giovine F.S., Duff G.W.: Genetics of tumour necrosis factor-alpha in autoimmune, infectious, and neoplastic diseases. *J. Inflamm.*, 1995; 45: 1–12
- [128] [www.bris.ac.uk/pathandmicro/services/GAI/cytokine4.htm](http://www.bris.ac.uk/pathandmicro/services/GAI/cytokine4.htm)
- [129] [www.Fda.gov](http://www.Fda.gov)
- [130] Wysoczańska B., Bogunia-Kubik K., Suchnicki K., Młynarczewska A., Lange A.: Combined association between IFN-gamma 3,3 homozygosity and DRB1\*03 in Löfgren's syndrome patients. *Immunol. Lett.*, 2004; 9: 127–131
- [131] Wysoczańska B., Karabon L., Młynarczewska A., Polak M., Lange A.: Polymorphism in the first intron IFNG gene and GvHD incidences in hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Eur. J. Immunogen.*, 2002; 29: 139

