Wpływ fototerapii UVA1 na aktywność kliniczną i wybrane mediatory zapalenia u chorych na atopowe zapalenie skóry

Lek. med. Karolina Malinowska

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

PROMOTOR

dr hab. n. med. Jarosław Bogaczewicz

Wydział Lekarski Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Łódź, 2020

STRESZCZENIE:

Wstęp

Atopowe zapalenie skóry klinicznie charakteryzujące się uporczywym świądem, występowaniem grudek wysiękowych, pęcherzyków i wykwitów wtórnych, takich jak nadżerki, przeczosy oraz lichenifikacja. W zależności od wieku pacjenta, choroba różni się pod względem lokalizacji i morfologii zmian skórnych. Zmiany skórne w AZS w sposób istotny obniżają jakość życia pacjentów, a występujący świąd skóry może powodować znaczne dolegliwości. W rozwoju AZS istotną rolę odgrywają geny warunkujące strukturę i funkcję bariery naskórkowej, czynniki immunologiczne związane z I oraz IV mechanizmem reakcji alergicznej według klasyfikacji Gell'a i Coombs'a, a także czynniki infekcyjne i środowiskowe obejmujące alergeny pokarmowe i powietrznopochodne. W AZS obserwuje się uwarunkowaną genetycznie dominację odpowiedzi humoralnej Th2. Cytokiny Th2 wpływają na dojrzewanie limfocytów B, w których genetyczne zmiany zaburzają równowagę tworzenia przeciwciał na korzyść wytwarzania IgE. Związek pomiędzy defektem bariery naskórkowej u pacjentów z AZS oraz dominacją odpowiedzi immunologicznej Th2, może być również spowodowany zwiększoną ekspresją określonych mediatorów zapalenia i innych cząstek zaangażowanych w dojrzewanie limfocytów T oraz aktywację komórek prezentujących antygeny. Jedną z form leczenie chorych na AZS jest stosowanie fototerapii wąskim pasmem UVA (340-400 nm), czyli UVA1. UVA1 charakteryzuje się głęboką penetracją, sięgającą do skóry właściwej. Efekt terapeutyczny UVA1 jest przypisywany jego właściwościom immunomodulującym. Powszechnie stosuje się 3 rodzaje dawek UVA1: niskie (10-20 J/cm²), średnie (50-60 J/cm²) i wysokie (130-150 J/cm²). Naświetlania dokonywane są codziennie, przez 5 kolejnych dni tygodnia, zwykle przez okres 3-4 tygodni. Nie ma jednak ścisłych zaleceń, stąd też dawkę i liczbę naświetlań dostosowywuje się indywidualnie do pacjenta, biorąc pod uwagę fototyp skóry i rodzaj leczonej dermatozy.

Cele pracy

Określenie skuteczności fototerapii UVA1 u chorych na atopowe zapalenie skóry (AZS) na podstawie zmiany wyniku wskaźnika SCORAD, zmniejszenia świądu i poprawy jakości życia.

Zbadanie wpływu fototerapii UVA1 na ekspresję mRNA genów TSLP, TARC, IL-4, -5, -8, 10, -13, -31, IFN-γ, CCR-4 i defenzyny β w skórze pacjentów z AZS.

Zbadanie korelacji pomiędzy poziomami mRNA TSLP, TARC, IL-4, -5, -8, 10, -13, -31, IFN-γ, CCR-4 i defenzyny β w skórze pacjentów z AZS przed i po fototerapii UVA1]

Materiał i metodyka

Do badania i fototerapii UVA1 zakwalifikowano 58 chorych na AZS w fazie zaostrzenia choroby, w tym 35 kobiet i 23 mężczyzn, w wieku od 17 do 61 lat (średnio 29,1±10,3 lat), którzy byli leczeni w Klinice Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Na przeprowadzenie badania uzyskano zgodę miejscowej Komisji Bioetycznej Nr RNN/16/14/KE. Rozpoznanie AZS było ustalane na podstawie spełnienia kryteriów diagnostycznych Hanifina i Rajki . Aktywność AZS była oceniania w oparciu o wskaźnik SCORAD, tj. wskaźnik oceny i narzędzie kontroli nasilenia atopowego zapalenia skóry . W tym celu procentowo oszacowano rozległość zmian na skórze zgodnie z regułą „dziewiątek". Następnie określano występowanie lub brak obecności zmian skórnych o morfologii wyprysku oceniając takie cechy, jak rumień, obrzęk, przeczosy, nadżerki, lichenifikację i suchość skóry, w skali nasilenia od 0 do 3. Następnie pytano pacjentów o objawy subiektywne, takie jak świąd skóry i bezsenność, które według pacjenta mogły być ocenione w skali od 0 do 10 w oparciu o wizualną skalę analogową. Po przeprowadzonym badaniu oceniono stopień nasilenia choroby posługując się wskaźnikiem SCORAD. Do oceny jakości życia wykorzystano polską wersję kwestionariusza DLQI. Część pacjentów zrezygnowała z udziału w badaniu i nie ukończyła leczenia z przyczyn osobistych. Dlatego też cykl fototerapii UVA1 ukończyło 36 chorych na AZS w tym 20 kobiet i 16 mężczyzn, w wieku od 17 do 61 lat, średnio 30,8±11,3 lat, i w tej grupie zbadano wpływ fototerapii UVA1 na zmianę wyniku SCORAD, odczuwanie świądu i jakość życia. W związku z faktem, że część chorych na AZS zrezygnowało z dwukrotnego pobrania wycinka skóry, niezbędnego do badania mRNA przed i po ukończonym cyklu fototerapii, ostateczna liczba pacjentów ograniczyła się do 25 osób, w wieku od 17 do 61 lat (średnio 32,4±11,5 lat) i w tej grupie zbadano wpływ fototerapii UVA1 na zmianę ekspresji mRNA w skórze. Fototerapia UVA1 była przeprowadzana przy użyciu lampy Medisun 24000

(Schulze & Bohm, Germany). Pacjenci byli poddawani 20 naświetlaniom całej skóry przez 5 kolejnych dni tygodnia. Wykorzystywano następujące dawki UVA1: 10 J/cm², 20 J/cm², 30 J/cm², 45 J/cm² i dawka 45 J/cm² była kontynuowana przez kolejne dni do uzyskania całkowitej liczby 20 naświetlań. Dawka skumulowana wynosiła 780 J/cm². Leczenie miejscowe ograniczało się do użycia wyłącznie emolientów. Pacjenci nie przyjmowali ogólnych leków antyalergicznych, sterydowych, immunosupresyjnych. Przed pierwszym naświetlaniem pobierano wycinek skóry z miejsc objętych zaostrzeniem choroby, klinicznie ocenianych na podstawie nasilenia rumienia, obrzęku, lichenifikacji, suchości skóry, wysięku w oparciu o wskaźnik SCORAD. Po zakończeniu 20 naświetlań UVA1, w okresie do dwóch godzin po ostatnim naświetlaniu pobierano drugi wycinek skóry z tej samej okolicy co pierwszy. Wycinki były mrożone i przechowywane w temperaturze -70°C. Z pobranych wycinków (bioptatów) skóry izolowano całkowity RNA przy użyciu mini kitów. RNA został określony ilościowo za pomocą spektrometru PicoDrop . Cząsteczki mRNA powielano w reakcji PCR. Do ilościowego określenia mRNA dla poszczególnych genów oraz endogennej kontroli (actin beta, *ACTB*) użyto standardowego zestawu polimerazy TaqMan® Gene Exspression Assays (Applied Biosystems) i ospowiednich substratów. Po osiągnięciu rezultatu, docelowe geny były reprezentowane jako ΔCt, co określa różnicę między progową liczbą docelowego genu a endogenną kontrolą.

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą oprogramowania Statistica, wersja 13.3 (Statsoft, Polska). Test rang Wilcoxona wykorzystano do porównania dwóch powtarzanych pomiarów u pacjentów z atopowym zapaleniem skóry przed i po fototerapii UVA1. Współczynnik korelacji rang Spearman'a został użyty do pomiaru zależności pomiędzy dwiema zmiennymi, podczas gdy graficzna reprezentacja korelacji została wyświetlona przez wykres rozrzutu. Wyniki przedstawiono jako medianę z dolnym i górnym kwartylem (25-75 centyl). Dane opisowe dotyczące wieku, były wyświetlane jako średnia±odchylenie standardowe średniej. We wszystkich obliczeniach wartość p mniejszą niż 0,05 uważano za istotną statystycznie.

Wyniki

Po fototerapii UVA1 u 36 pacjentów z AZS wykazano poprawę stanu klinicznego odzwierciedloną zmniejszeniem wartości SCORAD ($p<0,001$) [przed UVA1: 61,4 (48,1-71,7);

po UVA1: 32,3 (16,3-40,6)] i odczuwanego świądu ($p<0,001$) [przed UVA1: 8 (7-10); po UVA1 3 (1-5)].

Fototerapia UVA1 spowodowała poprawę jakości życia oceniona na podstawie zmniejszenia wartości DLQI u leczonych pacjentów z AZS ($p<0,001$) [przed UVA1: 15 (9-21); po UVA1: 6 (1,5-8,5)]. Wartość SCORAD była skorelowana DLQI ($r=0,61$; $p<0,05$) oraz ze świądem skóry UVA1 ($r=0,49$; $p<0.05$) u pacjentów z AZS przed fototerapią UVA1.Wykazano korelację między nasileniem świądu skóry a wynikami DLQI ($r= 0,34$; $p<0,05$).

Po fototerapii UVA1 wykazano wzrost poziomu mRNA dla TSLP, TARC, IL-4, IL-8 w skórze u chorych na AZS ($p<0,05$).

Nie wykazano istotnej zmiany poziomu mRNA dla IL-5, IL-10, IL-13, IL-31, INF-γ, CCR-4 i defenzyny β w skórze u chorych na AZS po fototerapii UVA1.

W skórze pacjentów z AZS przed fototerapią wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla TSLP a poziomem mRNA dla: TARC ($r=0,41$; $p<0,05$), IL-10 ($r=0,54$; $p<0,05$), IL-13 ($r=0,49$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,47$; $p<0,05$), defenzyny β ($r=0,75$; $p<0,05$). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla TSLP a poziomami mRNA dla IL-4, IL-5, IL-8, IL-31, IFN-γ w skórze chorych na AZS przed fototerapią UVA1.

Przed fototerapią UVA1 wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla TARC a poziomem mRNA dla: IL-4 ($r=0,43$; $p<0,05$), IL-5 ($r=0,62$; $p<0,05$), IL-8 ($r=0,46$; $p<0,05$), IL-10 ($r=0,8$; $p<0,05$), IL-13 ($r=0,78$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,64$, $p<0,05$), IFN-γ ($r=0,59$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,7$; $p<0,05$) i defensyny-β ($r=0,65$; $p<0,05$).

Wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-4 a poziomem mRNA dla: IL-5 ($r=0,6$; $p<0,05$), IL-10 w ($r=0,46$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,42$; $p<0,05$), przed UVA1.

Nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla IL-4 a poziomami mRNA dla IL-8, IL-13, IFN-γ, CCR-4, defenzyny β przed fototerapią UVA1.

Przed leczeniem UVA1 poziom mRNA dla IL-5 korelował z poziomem mRNA dla: IL-10 ($r=0,65$; $p<0,05$), IL-13 ($r=0,65$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,47$; $p<0,05$), defenzyny β ($r=0,42$; $p<0,05$). Nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla IL-5 a poziomami mRNA dla IL-8, IFN-γ, CCR-4 przed fototerapią UVA1.

W skórze pacjentów z AZS przed fototerapią UVA1 wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-8 a poziomem mRNA dla: IL-13 ($r=0,53$; $p<0,05$).

Nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla IL-8 a poziomami mRNA dla IL-10, IL-31, IFN-γ, CCR-4, defenzyny β przed fototerapią UVA1.

Przed fototerapią UVA1 wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-10 a poziomem mRNA dla: IL-13 ($r=0,82$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,85$; $p<0,05$), IFN-γ ($r=0,55$; $p<0,05$), CCDR-4 ($r=0,73$; $p<0,05$), defenzyny ($r=0,66$; $p<0,05$).

Przed fototerapią UVA1 wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-13 a poziomem mRNA dla: IL-31 ($r=0,81$; $p<0,05$), IFN-γ ($r=0,46$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,67$; $p<0,05$) i defenzyny β ($r=0,57$; $p<0,05$).

W skórze pacjentów z AZS przed fototerapią wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-31 a poziomem mRNA dla IFN-γ ($r=0,6$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,64$; $p<0,05$) i defenzyny β ($r=0,48$; $p<0,05$).

Przed fototerapią UVA1 wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IFN-γ a poziomem mRNA dla CCR-4 ($r=0,62$; $p<0,05$),

Nie wykazano istotnej korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla IFN-γ a poziomem mRNA dla defenzyny β przed fototerapią UVA1.

Przed fototerapią UVA1 wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla CCR-4 a poziomem mRNA dla defenzyny β ($r=0,49$; $p<0,05$).

W skórze pacjentów z AZS po fototerapii wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla TSLP a poziomem mRNA dla TARC ($r=0,61$; $p<0,05$), IL-5 ($r=0,5$; $p<0,05$), IL-8 ($r=0,45$; $p<0,05$), IL-10 ($r=0,64$; $p<0,05$), IL-13 ($r=0,46$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,47$; $p<0,05$), IL-IFN-γ ($r=0,52$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,41$; $p<0,05$) i defenzyny ($r=0,82$; $p<0,05$).Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla TSLP a poziomem mRNA dla IL-4.

Po leczeniu UVA1 wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla TARC a poziomem mRNA dla: IL-5 ($r=0,53$; $p<0,05$), IL-8 ($r=0,63$; $p<0,05$), IL-10 ($r=0,77$; $p<0,05$), IL-13 ($r=0,71$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,61$; $p<0,05$), IFN-γ ($r=0,78$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,7$; $p<0,05$), defensyny-β ($r=0,68$; $p<0,05$). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla TARC a poziomem mRNA dla IL-4.

Po fototerapii wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-4 a poziomem mRNA dla: IL-10 ($r=0,42$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,46$; $p<0,05$).

Nie stwierdzono korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla IL-4 a poziomami mRNA dla IL-5, IL-8, IL-13, IFN-γ, defenzyny β w skórze chorych na AZS po fototerapii UVA1.

Po fototerapii UVA1 wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-4 a poziomem ekspresji mRNA dla: IFN-γ ($r=0,44$; $p<0,05$).

Nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy poziomem mRNA dla IL-5 a poziomami mRNA dla IL-8, IL-13, IL-31, CCR-4, defenzyny β po fototerapii UVA1.

Wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-8 a poziomem mRNA dla: IL-10 ($r=0,54$; $p<0,05$), IL-13 ($r=0,71$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,69$; $p<0,05$) IFN-γ ($r=0,58$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,55$; $p<0,05$), defenzyny β ($r=0,68$; $p<0,05$).

Wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-10 a poziomem mRNA dla: IL-13 ($r=0,69$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,67$; $p<0,05$) IFN-γ ($r=0,83$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,6$; $p<0,05$), defenzyny β($r=0,7$; $p<0,05$).

Wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-13 a poziomem mRNA dla: IL-31 po fototerapii UVA1 ($r=0,71$; $p<0,05$).

Stwierdzono korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-13 a mRNA dla: IFN-γ ($r=0,75$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,79$; $p<0,05$), dla defenzyny β po fototerapii UVA1 ($r=0,63$; $p<0,05$).

Wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IL-31 a poziomem mRNA dla: IFN-γ ($r=0,57$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,46$; $p<0,05$), defenzyny β ($r=0,66$; $p<0,05$).

Wykazano korelację pomiędzy poziomem mRNA dla IFN-γ a poziomem mRNA dla: CCR- ($r=0,68$; $p<0,05$) i defenzyny β po fototerapii UVA1 ($r=0,63$; $p<0,05$).

Wnioski

Zastosowanie 20 naświetlań UVA1 przez 5 kolejnych dni tygodnia z wykorzystaniem średnich dawek: 10 J/cm², 20J/cm², 30 J/cm², 45 J/cm² i kontynuacji dawki 45 J/cm², czyli skumulowanej

dawki 780 J/cm², można uznać za skuteczną i bezpieczną metodę fototerapii chorych na atopowe zapalenie skóry, a zmniejszenie wyniku DLQI wskazuje na korzystny wpływ i poprawę jakości życia pacjentów uwarunkowaną chorobą skóry.

Występowanie w skórze ekspresji mRNA dla TSLP, TARC, IL-4, -5, -8, 10, -13, -31, IFN-γ, CCR-4 i defenzyny β oraz istnienie korelacji między nimi potwierdza ich udział w patogenezie atopowego zapalenia skóry.

Stwierdzony po fototerapii UVA1 wzrost poziomu mRNA dla TSLP, TARC, IL-4, IL-8 w skórze u chorych na atopowe zapalenie skóry wskazuje, że odpowiedź immunologiczna typu Th1 oraz Th2 nie wykluczają się wzajemnie, a działanie kofaktorów, przestrzenne rozdzielenie skóry właściwej od naskórka, także typ komórki, mogą mieć związek z przebiegiem reakcji zapalnej.

SUMMARY:

Introduction:

Atopic dermatitis is a chronic and recurring inflammatory skin disease asociated with pruritus, lichenification, eczema and typical topography. Skin manifestations may result in sleep disruption, irritability, generalized stress and it's correlated with quality of life deficiency. Atopi dermatitis is characterised by genetic predisposition towards skin barrier disfunction and excessive synthesis of IgE antibodies in response to a commonly present environ mental alergen. This disease is associated with type I and IV allergic reactions by the Gell Coombs classification. Atopic dermatitis i driven by strong type 2 immune responses, among Th2 immune mediators IL-4, IL-5, IL-13, INFγ, IL-8, IL-31, IL-10 have been demonstrated to play a key role in AD pathogenesis. The latest mode of phototherapy is associated with the use of narrow band of UVA (340-400nm) i.e UVA1. Taking into account immodultory mechanisms of UVA1 action, which mostly influences the apoptosis of T lymphocytes, UVA1 radiation is indicated in the treatment of atopic dermatitis. Three UVA1 types of doses, low (10-20 J/cm²), medium (50-60 J/cm²), and high (130-150J/cm²) are commonly used in phototherapy. However, there are no strict indications for its use and therefore to each patient individually, taking into account their different skin phenotype.

Objectives:

- To assessment of effectiveness UVA1 in the treatment of atopic drmatitis expressed in SCORAD index and DLQI questionnaire.

- To investigate TSLP, TARC, CCR-4, IL-4, IL-5, IL-8, Il-10, Il-13, IL-31, INFγ, def β mRNA expression in AD skin samples before and after UVA1.

-To identify correlations among foregoing mediators before and after UVA1.

Material and Methods

The study included 58 patients with exacerbated atopic dermatitis including 35 females and 23 males aged 17 to 61 years, treated in Dermtology Department UM in Lodz. The study was approved by the local Ethics Comittee RNN/16/14/RE. The diagnosis was based on classification of Hanifin and Rajka . In the clinical assessment of AD performer SCORAD index evaluation (scoring of atopic dermatitis). SCORAD is a clinical tool for assessing the severity of AD. Affected skin area is estimated by Wallace'a rule of nine. The intensity part of the SCORAD index consist of six itiems: erythema, oedema/papulation, excoriations, lichenification, oozing and dryness. Each item can be graded on a scale 0- none, 1- mild, 2- moderate, 3- severe. The subjetive items include daily pruritus and sleeplessness and it is evaluated using a visual analoque scale where 0 is no itch and 10 is the worst imaginable itch. For measurements of quality of life in AD patients were used DLQI questionnaires. On a final note the 36 patient finished UVA1 treatment, including 20 females and 16 males aged 17 to 61 years, mean 30,8±11,3. The others patient with atopic dermatitis resigned from UVA1 phototherapy by the personal reason. Biopsies were taken from acute skin lessions from 25 patients aged 17 to 61 years, mean 32,4±11,5. In foregoing group was investigated cytokine mRNA expression before and after UVA1. A Medium 2400 (Schulze &Bohm, Gmbh, Germany) was used for medium dose UVA1 phototherapy. The protocol comprised one exposure daily, on Monday to Friday, five days in a week. UV exposition starting from dose of 10 J/cm² rising through 20 and 30 on consecutive days to 45 J/cm². The final dose of 45 J/cm² was maintained for up to 20 consecutive days of phototherapy. Cumulative dose achieved 780 J/cm². Topical management was limited to the use of emollients. No systemic drugs and topical glucocorticosteroids for atopic dermatitis were administered. Biopsies were taken from acute skin lessions, which were clinically determined when erythema or edema or oozing exceeded one point according to SCORAD index. The first biopsy was taken before phototherapy and the second one within 2 hours after the last UVA1 irradiation. Skin samples were frozen at -70°C until assay. Total mRNA was extracted from biopsied skin samples using the RNeasy mini kits (Qiagen) according to the manufacturer's protocol. RNA was quantified using a PicoDrop spectrophotometer. mRNA was generated according to the reverse transcription protocols. mRNA quantification of the selected genes and actin beta (ACTB) as an endogenous control was performed using standard TaqMan® Gene Expresion Assays and adequate substrats. The results of target genes were represented as ΔCt, which represents the differences in cycle threshold numbers between the target gene and endogenous control. Statistical analysis was performed using Statistica software, version 13.3 (Statsoft, Poland). Wilcoxon signed-rank test was used to compare two repeated measurements in a sample of atopic dermatitis patients

before and after UVA1 phototeraphy. To find correlations, the Spearman correlation coefficient was estimated and was used to measure the dependence between the two variables. Graphical representation of the correlations was displayed as scatter diagram. The results are presented as a median with lower and upper quartile (25-75th percentile). Descriptive age data were displayed as the average±deviation of the standard average. In a calculation, p less than 0,05 was considered statistically significant.

Results:

After UVA1 phototherapy, 36 patients with AD showed an improvement in the clinical condition reflected by a decrease in SCORAD ($p<0,001$) [before UVA1: 61,4 (48,1-71,7); after UVA1: 32,3 (16,3-40,6)] and decrease in pruritus ($p<0,001$) [before UVA1: 8 (7-10); after UVA1 3 (1-5)]. UVA1 phptotherapy resulted in an improvement in the quality of life assessed on the basis of the reduction of DLQI of pruritus in treated patients witch AD ($p<0,001$) [before UVA1: 15 (9-21); after UVA1: 6 (1,5-8,5)]. SCORAD index was correlated with DLQI ($r=0,61$; $p<0,05$) and with skin pruritus UVA1 ($r=0,49$; $p<0.05$) in patients with AD before UVA1 phototherapy. A correlation between the severity of itching and DLQI result was shown ($r=0,34$,$p<0,05$).

After UVA1 phototherapy an increase in mRNA levels for TSLP, TARC, IL-4, IL-8 in the skin of AD patients was shown ($p<0,05$).

No significant change in mRNA levels for IL-5, IL-10, IL-13, IL-31, INF-γ, CCR-4 and defensin β in the skin was demonstrated in patients with AD after UVA1 phototherapy.

Before UVA1 phototherapy, mRNA for TSLP correlated with mRNA for TARC ($r=0,41$; $p<0,05$), IL-10 ($r=0,54$; $p<0,05$), IL-13 ($r=0,49$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,47$; $p<0,05$), and with defensin β ($r=0,75$; $p<0,05$). No correlation between mRNA for TSLP andIL-4, IL-5, IL-8, IL-31, INF-γ in the skin of AD patients before UVA1 was revealed.

Before UVA1 treatment mRNA for TARC correlated with mRNA for IL-4 ($r=0,43$; $p<0,05$), IL-5 ($r=0,62$; $p<0,05$), IL-8 ($r=0,46$; $p<0,05$), IL-10 ($r=0,8$; $p<0,05$), IL-13 ($r=0,78$; $p<0,05$), IL-31 ($r=0,64$, $p<0,05$), IFN-γ ($r=0,59$; $p<0,05$), CCR-4 ($r=0,7$; $p<0,05$), and def-β ($r=0,65$; $p<0,05$).

mRNA for IL-4 correlated with mRNA for IL-5 ($r=0,6$; $p<0,05$), IL-10 ($r=0,46$; $p<0,05$), IL-31

(r=0,42; p<0,05) before UVA1.

There were no significant correlations between mRNA levels for IL-4 and mRNA levels for IL-8, IL-13, IFN-γ, CCR-4, defensin β before UVA1 phototherapy.

Before UVA1 treatment, the mRNA level for IL-5 correlated with the mRNA level for IL-10 (r=0,65; p<0,05), IL-13 (r=0,65; p<0,05), IL-31 (r=0,47; p<0,05), defensin- β (r=0,42; p<0,05). There were no significant correlations between mRNA levels for IL-5 and mRNA levels for IL-8, IFN-γ, CCR-4 before UVA1 phototherapy.

Correlation between mRNA level for IL-8 and mRNA level for IL-13 was shown in the skin of AD patient before UVA1 phototherapy (r=0,53; p<0,05).

There were no significant correlations between mRNA levels for IL-8 and mRNA levels for IL-10, IL-31, IFN-γ, CCR-4, defensin β before UVA1 phototherapy.

Before UVA1 phototherapy, a correlation between the mRNA level for IL-10 and the mRNA level for: IL-13 (r=0,82; p<0,05), IL-31 (r=0,85; p<0,05), IFN-γ (r=0,55; p<0,05), CCDR-4 (r=0,73; p<0,05) and defensin-β (r=0,66; p<0,05) was revealed.

A correlation between the mRNA level for IL-13 and the mRNA level for: IL-31 (r=0,81; p<0,05), IFN-γ (r=0,46; p<0,05), CCR-4 (r=0,67; p<0,05), def- β (r=0,57; p<0,05) was shown before UVA1 phototherapy.

Before UVA1, correlations between mRNA for IL-31 and mRNA for INF-γ (r=0,6; p<0,05) and CCR-4 (r=0,64; p<0,05) and defensin- β (r=0,48; p<0,05) was found.

Correlations between mRNA for INF-γ and mRNA for CCR-4 (r=0,62; p<0,05), was shown before UVA1.

There was no significant correlation between the mRNA level for IFN-γ and mRNA level for defensin β before UVA1 phototherapy.

Before UVA1 phototherapy a correlation between mRNA level for CCR-4 and mRNA level for defensin β (r=0,49; p<0,05) was found.

After UVA1 phototherapy, mRNA for TSLP correlated with mRNA for TARC (r=0,61;

p<0,05), IL-5 (r=0,5; p<0,05), IL-8 (r=0,45; p<0,05), IL-10 (r=0,64; p<0,05), IL-13 (r=0,46; p<0,05), IL-31 (r=0,47; p<0,05), IL-IFN-γ (r=0,52; p<0,05), CCR-4 (r=0,41; p<0,05) and defensin- β (r=0,82; p<0,05). There was no correlation between the mRNA level for TSLP and the mRNA level for IL-4.

After treatment mRNA level for TARC correlated with mRNA level for: IL-5 (r=0,53; p<0,05), IL-8 (r=0,63; p<0,05), IL-10 (r=0,77; p<0,05), IL-13 (r=0,71; p<0,05), IL-31 (r=0,61; p<0,05), IFN-γ (r=0,78; p<0,05), CCR-4 (r=0,7; p<0,05), Def-β (r=0,68; p<0,05). There was no correlation between mRNA for TARC and mRNA for IL-4.

After UVA1 mRNA for Il-4 correlated with mRNA for IL-10 (r=0,42; p<0,05), IL-31 (r=0,46; p<0,05).

There was no significant correlations between mRNA for IL-4 and mRNA for IL-5, IL-8, IL-13 and def-β after UVA1.

After UVA1, mRNA for IL-4 and mRNA for IFN-γ (r=0,44; p<0,05) was correlated. There were no correlations between mRNA for IL-5 and mRNA for IL-8, IL-13, IL-31, CCR-4, Def-β.

After UVA1, level mRNA of IL-8 correlated with mRNA for IL-10 (r=0,54; p<0,05), IL-13 (r=0,71; p<0,05), IL-31 (r=0,69; p<0,05) IFN-γ (r=0,58; p<0,05), CCR-4 (r=0,55; p<0,05), Def- β (r=0,68; p<0,05).

After UVA1, mRNA for IL-10 correlated with mRNA for: IL-13 (r=0,69; p<0,05), IL-31 (r=0,67; p<0,05) IFN-γ (r=0,83; p<0,05), CCR-4 (r=0,6; p<0,05), defensin β (r=0,7; p<0,05).

After UVA1, mRNA for IL-13 correlated with mRNA for IL-31 (r=0,71; p<0,05).

There was a correlation between the level of mRNA for IL-13 and mRNA for: IFN-γ (r=0,75; p<0,05), CCR-4 (r=0,79; p<0,05), defensin- β (r=0,63; p<0,05) after UVA1.

After UVA1 phototherapy mRNA for IL-31correlated with mRNA for: IFN-γ (r=0,57; p<0,05), CCR-4 (r=0,46; p<0,05), def- β (r=0,66; p<0,05).

After UVA1 mRNA level for IFN-γ correlated with mRNA level for: CCR-4 (r=0,68; p<0,05) and def-β (r=0,63; p<0,05).

Conclusions:

1. The use of 20 UVA1 exposures of the for 5 consecutive days of the week using medium doses: 10 J/cm², 20 J/cm², 30 J/cm², 45 J/cm² and continuation of 45 J/cm² dose, i. e. cumulative dose of 780 J/cm² as the, can be considered effective and safe method of phototherapy of patients with atopic dermatitis, and decrease of DLQI indicates their beneficial effect and improvement of patients'; quality of life.
2. The presence of mRNAs for TSLP, TARC, IL-4, -5, -8, 10, -13, -31, IFN-γ, CCR-4 and defensin β in the skin of patients with AD and correlations among them cytokines confirm their participation in the pathogenesis of atopic dermatitis.
3. The increase in the level of mRNA for TSLP, TARC, IL-4, IL-8 in the skin after UVA1 phototherapy in patients with atopic dermatitis indicates that immune response of type Th1 and Th2 are not mutually exclusive, and the effect of cofactors, spatial separation of dermis from epidermis and cell type, may be associated with a course of an inflammatory reaction.