

KRZYSZTOF MATUSIEWICZ¹, KRYSZYNA MOWSZET¹, BARBARA IWAŃCZAK¹,
MAŁGORZATA MATUSIEWICZ²

Eosinophilic Cationic Protein – Its Role in Pathophysiology and Diagnostics

Eozynofilowe białko kationowe – znaczenie w patofizjologii i diagnostyce

¹ II Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia AM we Wrocławiu

² Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej AM we Wrocławiu

Streszczenie

W pracy autorzy przedstawili najnowsze doniesienia na temat eozynofilowego białka kationowego i jego znaczenia w patofizjologii i diagnostyce chorób przewodu pokarmowego. Eozynofilowe białko kationowe jest istotnym produktem aktywnych eozynofili. Jego stężenie w surowicy oraz w zmienionych zapalnie tkankach jest podwyższone w alergii, chorobach pasożytniczych, w eozynofilowym zapaleniu różnych odcinków przewodu pokarmowego, w nieswoistych zapaleniach jelit i jest proporcjonalne do ciężkości procesu patofizjologicznego. W związku z tym jego oznaczanie może być wykorzystywane do diagnostyki i oceny nasilenia procesu chorobowego (**Adv Clin Exp Med 2006, 15, 4, 683–688**).

Słowa kluczowe: eozynofilowe białko kationowe, alergia, nieswoiste zapalenia jelita, diagnostyka.

Abstract

In the present work the authors describe the current knowledge on eosinophilic cationic protein and its role in pathophysiology and diagnostics of diseases of the alimentary tract. Eosinophilic cationic protein is a basic product of active eosinophiles. Its concentration in the serum and affected tissues is elevated in allergy, eosinophilic inflammation of various segments of alimentary tract, inflammatory bowel disease. The magnitude of this elevation correlates with gravity of pathophysiological process and can be used in the diagnosis and monitoring disease (**Adv Clin Exp Med 2006, 15, 4, 683–688**).

Key words: eosinophilic cationic protein, allergy, inflammatory bowel disease, diagnostics.

Eozynofilowe białko kationowe (ECP – *eosinophilic cationic protein*) wyizolowano z komórek białaczki limfoblastycznej w 1971 r. [1]. W 1975 r. Olson et al. wykazali, że głównym źródłem tego białka są eozynofile [2]. Od kilku lat są dostępne metody laboratoryjne pozwalające na oznaczenie ECP w tkankach i płynach biologicznych i jest ono traktowane jako marker aktywacji eozynofili w różnych stanach chorobowych [3]. W ostatnich latach prowadzi się wiele badań nad ewentualnym udziałem białka ECP w patogenezie stanów chorobowych, w których biorą udział eozynofile [3–5].

Eozynofile stanowią u zdrowego pacjenta 1–3% leukocytów, a wzrost liczby krążących we krwi limfocytów jest charakterystyczny dla każde-

go rodzaju i umiejscowienia alergii oraz chorób pasożytniczych [6]. Choroby zapalne charakteryzuje ekspansja komórek efektorowych pochodzących z układu hematopoetycznego [7, 8]. W chorobach alergicznych i pasożytniczych dochodzi do nacieków zawierających przede wszystkim eozynofile, obserwuje się ponadto znaczny wzrost liczby limfocytów w tkankach [9, 10]. Eozynofile dominują w naciekach zapalnych w oskrzelach w astmie oskrzelowej i w pęcherzykach płucnych w eozynofilowym zapaleniu płuc oraz w alergicznym zapaleniu błony śluzowej nosa [11–13]. Nacieki eozynofili mogą być obecne w każdym odcinku przewodu pokarmowego: opisywano zapalenie eozynofilową, przełyku [14], żołądka [15],

jelita cienkiego w alergii pokarmowej, [16, 17] oraz jelita grubego [18] w powiązaniu z alergią pokarmową lub bez niej. W praktyce klinicznej eozynofilia obok podwyższonego stężenia całkowitego IgE, traktuje się jako podstawowy wskaźnik alergii, w tym alergii pokarmowej [9, 19, 20].

Zanim dochodzi do nacieku eozynofilowego oraz wydzielania przez nie zawartości ich ziarnistości, musi zajść wiele złożonych procesów. Eozynofile powstają w szpiku kostnym z wielopotentnej komórki pnia [9, 10]. Swoiste czynniki wzrostu, szczególnie IL-5, IL-3 i GC-MS, włączają poszczególne klasy genów, co prowadzi do powstania fenotypu dojrzałych eozynofilów [21]. Tuż po przekształceniu się eozynofilowego mieloblastu w promielocyt rozpoczyna się w ziarnistościach synteza białek charakterystycznych dla eozynofili [6, 21]. Dojrzałe limfocyty pod wpływem IL-5 przechodzą do krążenia obwodowego i następnie do tkanek [22, 23]. Głównymi miejscami, do których z krążenia obwodowego przechodzą eozynofile są przewód pokarmowy, płuca i skóra [9, 21]. Akumulacja eozynofilów w tkankach jest regulowana przez miejscowo wytwarzane cytokiny chemotaktyczne: wytwarzane przez monocyty białka MCP, RANTES, przez makrofagi białka MIP oraz eotaksyny [24, 25].

Pod wpływem wielu czynników, m.in. IL-3, IL-5, GM-CSF, składniki dopełniacza, eozynofile wydzielają wytwarzane i zawarte w nich białka. Odbywa to się poprzez egzocytozę, częściową degranulację lub cytolizę (nekrozę) [9].

Pięć rodzajów białek jest obecnych w dużych ilościach w eozynofilach i są one wydzielane do tkanek. Są to: główne białko zasadowe (*major basic protein* – MBP), peroksydaza eozynofilowa (EPO), eozynofilowe białko kationowe (*eosinophilic cationic protein* – ECP), neurotoksyna eozynofilowa (EDN), eozynofilowe białko EPX, krystaliczne białko Charcota-Leydena [8, 21]. Eozynofile ponadto pod wpływem pobudzenia wydzielają takie substancje, jak: histamina, rodniki tlenowe, tryptaza, leukotrieny, IL-4, IL-13 [3]. Markery te są obecne zarówno miejscowo w wydzielinach oraz płynach ustrojowych, jak i w surowicy krwi [3].

Jednym z białek wydzielanych przez eozynofile jest eozynofilowe białko kationowe (ECP). Jest ono obecne w macierzy dojrzałych ziarnistości eozynofili i jest wydzielane po ich pobudzeniu przez częściową degranulację komórek [3, 21].

ECP jest RNazą (rybonukleaza) [3, 26]. Badania immunobiochemiczne wykazały istnienie dwóch form ECP: jedna z nich (ECP1) znajduje się w ziarnistościach niepobudzonych eozynofili, druga natomiast (ECP2) pochodzi z komórek pobudzonych [27].

Gen kodujący ludzkie ECP (oznaczony jako RNS) zidentyfikowano w regionie q24-q31 chromosomu 14 [28] w bezpośrednim sąsiedztwie innych białek z rodziny endonukleaz: RNazy 4 (trzustkowej), angiogeniny, EPX/EDN. Jest ono syntetyzowane w postaci pre-białka i następnie modyfikowane w ziarnistościach eozynofilów. Jest to jednołańcuchowe białko o masie cząsteczkowej 16–22 kDa, zawierające cynk [3, 26]. W cząsteczce białka znajdują się miejsca potencjalnej glikozylacji [3]. ECP ma 67% homologicznej sekwencji aminokwasowej z inną rybonukleazą wydzielaną przez eozynofile, eozynofilowym białkiem X (EPX) i na podstawie dokładnych badań genetycznych wydaje się, że obydwa te białka wywodzą się z jednego genu, który uległ duplikacji około 30–40 milionów lat temu [29] oraz 31% homologicznej sekwencji aminokwasowej z rybonukleazą trzustkową.

ECP jest syntetyzowane już w promielocytach i znajduje się w ziarnistościach pierwotnych i swoistych [30]. W dojrzałych eozynofilach ECP znajduje się w macierzy swoistych ziarnistości. Eozynofile wydzielają ECP w odpowiedzi na wiele bodźców, m.in. immunoglobuliny IgA, IgG, IgM, składniki dopełniacza, IL-3, IL-5, GM-CSF, TNF-alfa [3, 8, 21]. Zbadano wpływ wielu leków na wydzielanie ECP *in vitro*. Okazało się, że kortykosteroidy nie hamują tego wydzielania [31], leki immunosupresyjne natomiast np. cyklosporyna A oraz β_2 -agonista, formoterol, oraz inhibitory leukotrienów, zafirlukast hamują uwalnianie ECP przez eozynofile [32–34].

Podstawowa aktywność RNAzowa ECP wynikająca z przynależności tego białka do rodziny rybonukleaz jest stosunkowo słaba (100 razy słabsza niż EDN/EPX) i ma niewielkie znaczenie biologiczne [3]. Ze względu na dużą zawartość argininy ECP ma wysokie pI = 10,8, co powoduje, że łatwo przyłącza się do ujemnie naładowanych cząsteczek, na przykład w błonach biologicznych. Rezultatem tego jest cytotoksyczność tego białka. Inne właściwości ECP wymieniono w tabeli 1.

Silne działanie cytotoksyczne ECP umożliwiające mu lizę komórek nie zależy od jego właściwości RNAzowych. Mechanizm ten nie jest jeszcze całkowicie poznany, ale wydaje się, że polega na wytworzeniu w błonie komórkowej porów wielkości około 50 Å, przez które mogą przechodzić elektrolity i woda, co prowadzi do lizy osmotycznej komórki [35].

Innym celem aktywności ECP są komórki centralnego układu nerwowego; nawet bardzo niewielkie ilości ECP uszkadzają komórki Purkiniego w mózdzku, prowadząc do tzw. zjawiska Gordona, które może mieć znaczenie w zwyrodnieniach gąbczastych mózgu [36].

Tabela 1. Właściwości biologiczne białka ECP według [3, 6, 10]**Table 1.** Biological properties of eosinophilic cationic protein according to [3, 6, 10]

Działania cytotoksyczne korzystne dla organizmu ludzkiego (Cytotoxic activity – therapeutic for human organism)
bakteriobójczość
działanie przeciwpasożytnicze
działanie przeciwwirusowe
liza komórek nowotworowych
Działania cytotoksyczne niekorzystne dla organizmu ludzkiego (Cytotoxic activity – damaging human organism)
neurotoksyczność
uszkodzanie komórek układu sercowo-naczyniowego
uszkodzanie komórek układu oddechowego
uszkodzanie komórek układu pokarmowego
Działania biologiczne niewynikające z cytotoxyczności (Biological activity – not induced by cytotoxicity)
hamowanie proliferacji limfocytów T
stymulowanie bazoofilów do wydzielania histaminy
wpływ na czas krzepnięcia
aktywacja plazminogenu
inhibicja streptokinazy
antagonizm w stosunku do heparyny
interakcje z układem dopełniacza
pobudzanie mastocytów w układzie krążenia
wpływ na wytwarzanie proteoglikanów przez fibroblasty
pobudzanie wydzielania śluzu w układzie oddechowym
indukcja ekspresji receptora IGF1 w nabłonku oskrzelowym
pobudzanie ICAM-1 w komórkach nabłonków błon śluzowych

Oprócz aktywności cytotoksycznej białko ECP ma wiele właściwości immunomodulacyjnych. Między innymi należy do nich hamowanie proliferacyjnej odpowiedzi limfocytów T i zaburzenie syntezy immunoglobulin przez limfocyty B. ECP powoduje uwalnianie histaminy i tryptazy z mastocytów oraz histaminy z bazoofilów [3]. Zmienia ekspresję wielu ligandów i receptorów na powierzchni komórek nabłonkowych, m.in. insulinopodobnego czynnika wzrostu IGF-1 [37], cząsteczek adhezyjnych ICAM-1 [38]. ECP wzmacnia wytwarzanie glikozaminoglikanów przez fibroblasty, nasilając w ten sposób sekrecję śluzu przez błonę śluzową dróg oddechowych [39].

Od czasu opracowania komercyjnych testów pozwalających na oznaczanie ECP zaczęto mierzyć to białko w wielu płynach ustrojowych i badać związek jego stężenia z obecnością i nasileniem wielu procesów chorobowych, w których biorą udział eozynofile, szczególnie w chorobach alergicznych, takich jak: astma oskrzelowa, alergia pokarmowa i atopowe zapalenie skóry, różne procesy zapalne, m.in. nieswoiste zapalenia jelit, zapalenia eozynofilowe różnych narządów [3, 4, 6, 7, 12, 16, 21].

Większość doniesień oceniających przydatność oznaczania stężenia ECP dotyczy chorych na

astmę oskrzelową. Białko to oznaczano w surowicy, ślinie oraz w popłuczynach oskrzelowych. Stwierdzono, że stężenie ECP w surowicy koreluje z ciężkością astmy [40, 41]. Okazało się również, że ECP w surowicy wzrasta w przypadku ekspozycji chorych z astmą na alergen, zanim wystąpią objawy, spada natomiast po eliminacji alergenu z otoczenia [42]. Wykazano przydatność oznaczania ECP w surowicy do oceny skuteczności leczenia astmy u dorosłych i u dzieci [43–45].

Użyteczne okazało się oznaczanie ECP w popłuczynach z drzewa oskrzelowego (BAL). Wykazano związek podwyższonego stężenia ECP w popłuczynach z drzewa oskrzelowego z późną reakcją astmatyczną (LAR) i jego spadek u pacjentów otrzymujących odpowiednie leczenie [46–48].

Alergia pokarmowa

W alergii pokarmowej eozynofile należą również do podstawowych komórek efektorowych, a wydzielane przez nie substancje prowadzą do uszkodzenia tkanek oraz zaburzeń czynności przewodu pokarmowego [49]. Podczas ekspozycji na alergen dochodzi do pobudzenia między innymi mastocytów i eozynofilów oraz wzrostu obecności białek produkowanych przez nie w błonie śluzowej oraz w świetle przewodu pokarmowego [50, 51]. Białka te są mediatorami reakcji zapalnych, naczynioruchowych i wpływają na miejscowy układ nerwowy [52]. Chung et al. wykazali związek uszkodzenia błony jelita cienkiego z ilością ECP w błonie śluzowej [53]. Hill et al. [54] wykazali, że eozynofile są odpowiedzialne za pośrednią fazę odpowiedzi na antygen (ze względu na czas reakcji), mastocyty za natychmiastową, a limfocyty T za późną.

W surowicy krwi jest obecna eozynofilia, eozynofile wykazują cechy aktywacji oraz są obecne białka pochodzące z ziarnistości eozynofilowych [55]. Eozynofilia oraz stężenie ECP w surowicy zależą od czasu do wystąpienia reakcji (późna lub wczesna) oraz czasu, który upłynął od wystąpienia reakcji do dokonywania pomiaru.

Niggeman et al. [56] badał stężenie ECP przed i po prowokacji alergenem u dzieci z atopowym zapaleniem skóry. Stwierdził, że u dzieci z dodatnią reakcją na prowokację następuje spadek liczby krążących we krwi eozynofilów, co tłumaczy ich zaangażowaniem w miejscu reakcji. Stężenie białka ECP w surowicy początkowo (przez pierwsze 8 godzin) nie zmieniało się, a następnie wzrastało. Podobne rezultaty uzyskali inni autorzy [57–59].

Od pewnego czasu podejmuje się próby zastosowania monitorowania stężenia tych białek, przede wszystkim w surowicy, jako markera zapa-

lenia alergicznego w alergii pokarmowej [60, 61]. Czyniono również próby pomiaru białek ECP i EPX/EDN w moczu [59], popłuczynach światła jelita pobieranych w czasie gastroskopii oraz w kale [61]. Opracowano metody pomiaru tych białek w płynach ustrojowych są dostępne komercyjne zestawy do wykonania tych pomiarów [62]. Oznaczenie stężenia ECP jest badaniem nieinwazyjnym, mało pracochłonnym i stosunkowo tanim i mogłoby być wykonywane w rozpoznawaniu alergii pokarmowej, potwierdzeniu patogenetycznej roli podejrzanego alergenu po prowokacji tym alergenem oraz monitorowaniu ustępowania stanu zapalnego przewodu pokarmowego po odstawieniu alergenu z diety [63].

Opisywano eozynofilowe zapalenie przełyku, w którym ECP ma duże znaczenie w mechanizmie uszkodzenia błony śluzowej [64–66].

Nieswoiste zapalenia jelit

Błona śluzowa jelita pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit charakteryzuje się uszkodzeniem komórek nabłonka oraz naciekiem różnych komórek prozapalnych: neutrofilów, limfocytów, plazmacytów, makrofagów i eozynofili [49, 67].

Eozynofile zarówno w błonie śluzowej jelita, jak i w krwi obwodowej pacjentów z zaostrzeniem nieswoistego zapalenia jelita są pobudzone i wydzielają duże ilości mediatorów prozapalnych [68, 69].

Luck et al. wykazali zwiększoną aktywność eozynofili z krwi obwodowej pacjentów z chorobą Crohna i wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego. Ilość wydzielanego ECP wykazywała dodatnią znamioną statystycznie korelację z indeksem PCDAI aktywności choroby [70]. Aktywność ECP i EPX/EDN w kale u pacjentów w aktywnej fazie choroby Crohna oraz wrzodziejącego zapalenia jelita grubego była znacznie większa niż u chorych w fazie remisji oraz zdrowych [71]. Stężenie białek kationowych wydzielanych przez eozynofile w popłuczynach jelita wykazywało korelację z aktywnością nieswoistych zapaleń jelita [72]. Snadgfeld et al. wykazali, że aktywność eozynofili mierzona jako stężenie ECP i EPX korelowała z ciężkością zmian endoskopowych u chorych na wrzodziejące zapalenie jelita grubego leczonych miejscowo lekami steroidowymi [73].

Stężenie ECP w surowicy oraz w tkankach dotkniętych procesem chorobowym jest proporcjonalne do nasilenia zmian patofizjologicznych. W związku z tym jego oznaczenie może mieć zastosowanie w diagnostyce i ocenie nasilenia choroby.

Piśmiennictwo

- [1] **Olsson I, Venge P:** Cationic proteins of human granulocytes. II. Separation of the cationic proteins of the granules of leukaemia myeloid cells. *Blood* 1974, 44, 235–246.
- [2] **Olsson I, Venge P, Spitznagel JK, Lehrer RI:** Arginine-rich cationic proteins of human eosinophil granules. Comparison of the constituents of eosinophilic and neutrophilic leukocytes. *Lab Invest* 1977, 36, 493–500.
- [3] **Venge P, Bystrome J, Carlson MM, Hae Kansson L, Karawaczyk M, Paterson C, Sevea L, Trulsson A:** Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clin Exp Allergy* 1999, 29, 1172–1186.
- [4] **Venge P:** Monitoring the allergic inflammation. *Allergy*, 2004, 59 (1), 26–32.
- [5] **Walsh GM:** Advances in the immunobiology of eosinophils and their role in disease. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1999, 36, 453–496.
- [6] **Rothenberg ME:** Eosinophilia. *N Engl J Med* 1998, 338, 1592–1600.
- [7] **Hogan SP, Rottenberg ME:** The eosinophil as a therapeutic target in gastrointestinal disease. *Alimen Pharmacol Ther* 2004, 20, 1231–1240.
- [8] **Carlson MM:** Eosinophils Maintain Their Capacity to Signal and Release Eosinophil Cationic Protein Upon Repetitive Stimulation. *J Immunol* 2000, 165, 4069–4075.
- [9] **Mygind N, Dahl R, Pedersen S, Thestrup K:** W: *Alergologia* ss. 133–151. Urban and Partner, Wrocław 1998.
- [10] **Brostoff J, Hall T:** W: *Immunologia*. Eds.: Roitt I, Brostoff J, Male D. PZWL, Warszawa 2000.
- [11] **Kay AB, Phipps S, Robinson DS:** A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. *Trends Immunol* 2004, 25, 477–482.
- [12] **Wolthers OD:** Eosinophil granule proteins in the assessment of airway inflammation in pediatric bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2003, 14, 248–254.
- [13] **Bellanti JA:** Allergic rhinitis update: Epidemiology and natural history. *Allergy Asthma Proc* 2000, 21, 367–370.
- [14] **Orenstein SR:** The spectrum of pediatric eosinophilic esophagitis beyond infancy: a clinical series of 30 children. *Am J Gastroenterol* 2000, 95, 1422–1430.
- [15] **Kelly KJ:** Eosinophilic gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000, 30 (Suppl.), S28–S35.
- [16] **Rottenberg ME, Mishra A, Brandt EB, Hogan SP:** Gastrointestinal eosinophils. *Immunol Rev* 2001, 179 (1), 139–155.
- [17] **Furuta GT, Ackerman SJ, Wershil BK:** The role of the eosinophil in gastrointestinal diseases. *Curr Opin Gastroenterol* 1995, 11, 541–547.
- [18] **Kweon MN, Yamamoto M, Kajiki M, Takahashi I, Kiyono H:** Systemically derived large intestinal CD4⁺ Th2 cells play a central role in STAT6-mediated allergic diarrhea. *J Clin Invest* 2000, 106, 199–206.

- [19] **Kaczmarek M, Matuszewska E:** Diagnostyka alergii i nietolerancji pokarmowej u dzieci. *Alergia Astma Immunol* 2000, 5, 77–81
- [20] **Sampson HA:** Food Allergy. Part 2: Diagnosis and management. *J Allergy Clin Immunol* 1999, 103, 981–989.
- [21] **Giembycz MA, Lindsay MA:** Pharmacology of the Eosinophil. *Pharmacol Rev* 1999, 51, 213–340.
- [22] **Collins PD, Marleau S, Griffiths-Johnson DA, Jose PJ, Williams TJ:** Cooperation between interleukin-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation in vivo. *J Exp Med* 1995, 182, 1169–1174.
- [23] **Palframan RT, Collins PD, Williams TJ, Rankin SM:** Eotaxin induces a rapid release of eosinophils and their progenitors from the bone marrow. *Blood* 1998, 91, 2240–2248.
- [24] **Luster AD:** Chemokines: chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med* 1998, 338, 436–445.
- [25] **Jose PJ:** Eotaxin: a potent eosinophil chemoattractant cytokine detected in a guinea pig model of allergic airways inflammation. *J Exp Med* 1994, 179, 881–887.
- [26] **Mallorqui-Fernandez G, Pous J, Peraculá R:** Three-dimensional Crystal Structure of Human Eosinophil Cationic Protein (RNase 3) at 1.75 Å Resolution. *J Mol Biol* 2000, 300, 1297–1303.
- [27] **Tai PC, Spry CJ, Peterson C, Venge P, Olsson I:** Monoclonal antibodies distinguish between storage and secreted forms of eosinophil cationic protein. *Nature* 1994, 309, 182–184.
- [28] **Rosenberg HF, Ackerman SJ, Tenen DG:** Human eosinophil cationic protein. Molecular cloning of a cytotoxin and helminthotoxin with ribonuclease activity. *J Exp Med* 1989, 170, 163–176.
- [29] **Gleich GJ, Loegering DA, Bell MP, Checkel JL, Akerman SJ, McKean DJ:** Biochemical and functional similarities between human eosinophil-derived neurotoxin and eosinophil cationic protein: homology with ribonuclease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, 83, 3146–3150.
- [30] **Lacy P, Moqbel R:** Eosinophil cytokines. *Chem Immunol* 2000, 76, 134–155.
- [31] **Kita H, Abu-Ghazaleh R, Sanderson CJ, Gleich GJ:** Effect of steroids on immunoglobulin-induced eosinophil degranulation. *J Allergy Clin Immunol* 1991, 87, 70–77.
- [32] **Meng Q, Ying S, Corrigan CJ, Wakelin M, Assoufi B, Moqbel R, Kay AB:** Effects of rapamycin, cyclosporin A and dexamethasone on interleukin 5-induced eosinophil degranulation and prolonged survival. *Allergy* 1997, 52, 1095–1101.
- [33] **Eda R, Sugiyama H, Hopp RJ, Okada C, Bewtra AK, Townley RG:** Inhibitory effects of formoterol on platelet-activating factor induced eosinophil chemotaxis and degranulation. *Int Arch Allergy Immunol* 1993, 102, 391–398.
- [34] **Kawashima T, Iwamoto I, Nakagawa N, Tomioka H, Yoshida S:** Inhibitory effect of pemirolast, a novel antiallergic drug, on leukotriene C4 and granule protein release from human eosinophils. *Int Arch Allergy Immunol* 1994, 103, 405–409.
- [35] **Young JD, Paterson CG, Venge P, Cohn ZA:** Mechanism of membrane damage mediated by human eosinophil cationic protein. *Nature* 1986, 321, 613–616.
- [36] **Fredens K, Dahl R, Venge P:** The Gordon phenomenon induced by the eosinophil cationic protein and eosinophil protein-X. *Allergy Clin Immunol* 1982, 70, 361–366.
- [37] **Chihara J, Urayama O, Tsuda A, Kakazu T, Higashimoto I, Yamada H:** Eosinophil cationic protein induces insulin-like growth factor I receptor expression on bronchial epithelial cells. *Int Arch Allergy Immunol* 1996, 111, 43–45.
- [38] **Chihara J, Yamamoto T, Kurachi D, Kakazu T, Higashimoto I, Nakajima S:** Possible release of eosinophil granule proteins in response to signaling from intercellular adhesion molecule-1 and its ligands. *Int Arch Allergy Immunol* 1995, 108 (Suppl. 1), 52–54.
- [39] **Herrnaes J, Saernstrand B, Lindroth P, Peterson CG, Venge P, Malmstro EA:** Eosinophil cationic protein alters proteoglycan metabolism in human lung fibroblast cultures. *Eur J Cell Biol* 1992, 59, 352–363.
- [40] **Venge P:** Soluble markers of allergic inflammation. *Allergy* 1994, 5, 128–134.
- [41] **Kay AB, Phipps S, Robinson DS:** A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. *Trends Immunol* 2004, 25, 9, 477–482.
- [42] **Wever AMJ, Wever-Hess J, Hermans J:** The use of serum eosinophil cationic protein (ECP) in the management of steroid therapy in chronic asthma. *Clin Exp Allergy* 1997, 27, 519–529.
- [43] **Baba K, Sekii T, Yoshida K:** Usefulness of serum ECP value as an indicator to adjust doses of inhaled steroids in adult bronchial asthma treatment. *Clin Allergy* 1997, 17, 55–73.
- [44] **Iikura Y, Matsumoto T, Kuwahata K:** Evaluation of serum eosinophil cationic protein (ECP) for monitoring of childhood asthma: as a marker for indication and discontinuation of inhaled steroid therapy. *Allergol Immunol* 1997, 4, 92–103.
- [45] **Koller DY, Herouy Y, Goëtz M, Hagel E, Urbanek R, Eichler I:** Clinical value of monitoring eosinophil activity in asthma. *Arch Dis Child* 1995, 73, 413–417.
- [46] **Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enandr I, Venge P, Ahlsted S, Simony-Lafontaine J, Godard P:** Eosinophilic inflammation in asthma. *New Eng J Med* 1990, 323, 1033–1039.
- [47] **Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Enandr I, Venge P, Paterson C, Ahlsted S, Michel FB, Godard P:** Indirect evidence of bronchial inflammation assessed by titration of inflammatory mediators in BAL fluid of patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1991, 88, 649–660.
- [48] **Ferguson AC, Whitelaw M, Brown H:** Correlation of bronchial eosinophil and mast cell activation with bronchial hyperresponsiveness in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992, 90, 609–613.
- [49] **Franco Torrente F, Murch SH:** Food Allergic Enteropathy. In: *Pediatric Gastrointestinal Disease*, 944–957. Eds.: Walker WA, Goulet O, Kleinman RE, Herman PM, Shneider BL, Anderson IR. De Decker, Hamilton, Canada 2004.

- [50] **Kapel N, Matarazzo P, Haouchine D, Abiola N, Guerin S, Magne D, Gobert JG:** Fecal tumor necrosis factor alpha, eosinophil cationic protein and IgE levels in infants with cows milk allergy and gastrointestinal manifestations. *Clin Chem Lab Med* 1999, 37, 29–32.
- [51] **Santos J, Bayarri C, Saperas E, Nogueiras C, Antolin M, Mourelle M, Cadahia A, Malagelada JR:** Characterisation of immune mediator release during the immediate response to segmental mucosal challenge in the jejunum of patients with food allergy. *Gut* 1999, 45, 553–558.
- [52] **Collins SM:** The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. *Gastroenterology* 1996, 111, 1683–1699.
- [53] **Chung HL, Hwang JB, Kwon YD, Park HM, Shin WJ, Park JB:** Deposition of eosinophil granule major basic protein and expression of intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in the mucosa of the small intestine in infants with cow's milk sensitive enteropathy. *J Allergy Clin Immunol* 1999, 103, 1195–1201.
- [54] **Hill DJ, Firer MA, Shelton MJ, Hosking CS:** Manifestations of milk allergy in infancy: clinical and immunologic findings. *J Pediatr* 1986, 109, 270–276.
- [55] **Majamaa H, Laine S, Miettinen A:** Eosinophil protein X and eosinophil cationic protein as indicators of intestinal inflammation in infants with atopic eczema and food allergy. *Clin Exp Allergy* 1998, 29, 1502–1506.
- [56] **Niggemann B, Beyer K, Wahn U:** The role of eosinophils and eosinophilic cationic protein in monitoring oral challenge test in children with food-sensitive atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1994, 94, 963–971.
- [57] **Majamaa H, Laine S, Miettinen A:** Eosinophils protein X and eosinophil cationic protein as indicators of intestinal inflammation in infants with atopic eczema and food allergy. *Clin Exp Immunol* 1999, 29, 1502–1506.
- [58] **Gebhart M:** Monitoring of serologic immune parameters in inflammatory skin diseases. *Allergy* 1997, 52, 1087–1094.
- [59] **Lugosi G, Halmerbauer G, Frischer T, Koller GY:** Urinary eosinophil protein X in relation to disease activity in childhood asthma. *Allergy* 1997, 52, 584–588.
- [60] **Kay AB, Phipps S, Robinson DS:** A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. *Trends Immunol* 2004, 25, 477–482.
- [61] **Wolthers OD:** Eosinophil granule proteins in the assessment of airway inflammation in pediatric bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2003, 14, 248–254.
- [62] **Majamaa H, Moiso P, Holm K, Turjanmaa K:** Wheat allergy: diagnostic accuracy of skin prick and patch tests and specific IgE. *Allergy* 1999, 54, 851–856.
- [63] **Mowszet K, Matusiewicz K:** Przydatność oznaczania białka ECP w kale w diagnostyce alergii pokarmowej u dzieci. III Kongres Gastroenterologiczny, Kraków 2004. Materiały zjazdowe str. 11.
- [64] **Hogan SP, Mishra A, Brandt EB:** A pathological function for eotaxin and eosinophils in eosinophilic gastrointestinal inflammation. *Nat Immunol* 2001, 2, 353–360.
- [65] **Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, Rothenberg ME:** IL-5 promotes eosinophil trafficking to the esophagus. *J Immunol* 2002, 168, 2464–2469.
- [66] **Vandezande LM, Wallaert B, Desreumaux P, Tscipolus A, Lamblin C, Tonnel AB:** Interleukin-5 immunoreactivity and mRNA expression in gut mucosa from patients with food allergy. *Clin Exp Allergy* 1999, 29, 652–659.
- [67] **Raab Y, Fredens K, Gerdin B:** Eosinophil activation in ulcerative colitis. Studies on mucosal release and localisation of eosinophil granule constituents. *Dig Dis Sci* 1998, 43, 1061–1070.
- [68] **Dubucquoi S, Janin A, Klein O, Destreumaux P, Colombel JF:** Activated eosinophils and interleukin-5 expression in early recurrence of Crohn's disease. *Gut* 1995, 37, 242–246.
- [69] **Kam L, Pizzaro TT, Cominelli F:** Cytokines and chemokines in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 1995, 11, 305–309.
- [70] **Luck W, Becker M, Niggemann B, Wahn U:** In vitro release of eosinophil cationic protein from peripheral eosinophils reflects disease activity in childhood Crohn disease and ulcerative colitis. *Eur J Pediatr* 1997, 156, 921–924.
- [71] **Forbes E., Murase T, Yang M, Matthaei KI, Lee JJ, Lee NA, Foster PS, Hogan SP:** Immunopathogenesis of Experimental Ulcerative Colitis Is Mediated by Eosinophil Peroxidase. *J Immunol* 2004, 172(9), 5664–5675
- [72] **Levy AM, Gleich GJ, Sandborn WJ:** Increased eosinophil granule proteins in gut lavage fluid from patients with inflammatory bowel disease. *Mayo Clin Proc* 1997, 72, 117–123.
- [73] **Sangfelt P, Carlson M, Thorn M, Loof L, Raag Y:** Neutrophil and eosinophil granule proteins as markers of response to local prednisolon in distal ulcerative colitis and proctolitis. *Am J Gastro* 2001, 96, 1085–1090.

Adres do korespondencji:

Krzysztof Matusiewicz
II Katedra i Klinika Pediatrii, Gastroenterologii i Żywienia AM
ul. Skłodowskiej-Curie 50-52
50-369 Wrocław
tel.: +48 71 320 08 03
e-mail: akra20@poczta.onet.pl

Conflict of interest: None declared

Praca wpłynęła do Redakcji: 28.10.2005 r.
Po recenzji: 10.02.2006 r.
Zaakceptowano do druku: 10.02.2006 r.

Received: 28.10.2005
Revised: 10.02.2006
Accepted: 10.02.2006