

Interleukins-6, -8 and -12p40 and C-reactive protein levels in patients with acne vulgaris with various severity of skin changes

Stężenie interleukin 6, 8 i 12p40 oraz białka C-reaktywnego u pacjentów z trądzikiem pospolitym o różnym nasileniu zmian skórnych

Anna Stańkowska¹, Beata Bergler-Czop², Ligia Brzezińska-Wcisło²

¹The "Miełcki" Independent, Public, Clinical Hospital, Katowice, Poland

²Department of Dermatology, Silesian Medical University, Katowice, Poland

¹Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny im. Miełckiego, Katowice, Polska

²Katedra i Klinika Dermatologii, Śląski Uniwersytet Medyczny, Katowice, Polska

Dermatol Rev/Przeł Dermatol 2020, 107, 308–322

DOI: <https://doi.org/10.5114/dr.2020.99876>

CORRESPONDING AUTHOR/
ADRES DO KORESPONDENCJI:
Beata Bergler-Czop
Katedra i Klinika Dermatologii
Śląski Uniwersytet Medyczny
ul. Francuska 20-24
40-027 Katowice
tel./faks: +48 32 259 15 81
e-mail: bbergler-czop@sum.edu.pl

ABSTRACT

Introduction. Acne vulgaris is one of the most common skin diseases. It occurs mainly in young people and affects about 80% of individuals in this age group. The role of pro-inflammatory cytokines in the development of lesions is not fully understood.

Objective. To assess the relationship between levels of interleukins -6, -8, -12p40 and C-reactive protein in the blood serum of patients diagnosed with acne vulgaris and the severity of skin lesions in this group of patients.

Material and methods. Serum samples collected from 47 patients (37 women and 10 men) with acne vulgaris and 41 healthy volunteers (21 women and 20 men) aged 18 to 34 years were tested. The levels of interleukins -6, -8, -12p40 and C-reactive protein were determined by enzyme immunoassay ELISA. The concentrations were correlated with the severity of the disease process using the generally available Food and Drug Administration (FDA) scale.

Results. The serum level of interleukin 6 of acne vulgaris patients was higher than in the control group. A statistically significant correlation was demonstrated between the interleukin-6 level and severity of skin lesions in the course of the disease. Serum levels of interleukin-8 of volunteers from both groups did not show a statistically significant difference. However, it was found that in patients with acne vulgaris, the serum concentration of interleukin-12p40 is lower compared to the control group. Patients with acne vulgaris have higher C-reactive protein levels compared to the control group. A statistically significant positive correlation was found between the C-reactive protein level and the severity of the disease.

Conclusions. Interleukin-6 may be a helpful marker for monitoring the course of the disease and a useful tool for assessing an individual patient's predisposition to severe skin lesions. Thus, it can contribute to faster decision making regarding the introduction of systemic therapy. Interleukin-12p40 deficiency may be one of the most important factors in the aetiopathogenesis of the disease, especially at the earliest stages.

STRESZCZENIE

Wprowadzenie. Trądzik pospolity jest jedną z najczęstszych chorób skóry. Występuje głównie u ludzi młodych i dotyczy ok. 80% osób w tej grupie wiekowej. Rola cytokin prozapalnych w powstawaniu zmian chorobowych nie jest do końca wyjaśniona.

Cel pracy. Ocena zależności między stężeniami interleukin 6, 8 i 12p40 oraz białka C-reaktywnego w surowicy pacjentów z rozpoznaniem trądzikiem pospolitym a nasileniem zmian skórnych.

Materiał i metody. Zbadano surowicę 47 pacjentów (37 kobiet i 10 mężczyzn) z trądzikiem pospolitym oraz 41 zdrowych ochotników (21 kobiet i 20 mężczyzn) w wieku od 18 do 34 lat. Stężenia interleukin 6, 8, 12p40 i białka C-reaktywnego oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA. Stężenia zostały skorelowane z nasileniem procesu chorobowego przy użyciu ogólnodostępnej skali wg amerykańskiej Agencji Żywności i Leków (FDA).

Wyniki. Stężenie interleukiny 6 w surowicy pacjentów z trądzikiem pospolitym było większe niż w grupie kontrolnej. Stwierdzono statystycznie istotną korelację między stężeniem interleukiny 6 a stopniem nasilenia zmian skórnych w przebiegu choroby. Stężenia interleukiny 8 w surowicy ochotników obu grup nie wykazały różnicy istotnej statystycznie. Wykryto natomiast, że u osób chorujących na trądzik pospolity stężenie interleukiny 12p40 w surowicy jest niższe niż w grupie kontrolnej. U pacjentów z trądzikiem stężenie białka C-reaktywnego jest wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono statystycznie istotną dodatnią zależność między stężeniem białka C-reaktywnego i stopniem nasilenia zmian skórnych.

Wnioski. Interleukina 6 może być markerem służącym do monitorowania przebiegu choroby oraz przydatnym narzędziem do oceny indywidualnej predyspozycji danego pacjenta do wystąpienia zmian skórnych o dużym nasileniu. Może się przyczynić do szybszego podjęcia decyzji o włączeniu terapii ogólnej. Niedobór interleukiny 12p40 może być jednym z najważniejszych czynników odgrywających rolę w etiopatogenezie choroby, zwłaszcza w najwcześniejszych stadiach.

Key words: acne vulgaris, inflammation, interleukin-6, interleukin-8, interleukin-12p40, C-reactive protein.

Słowa kluczowe: trądzik pospolity, zapalenie, interleukina 6, interleukina 8, interleukina 12p40, białko C-reaktywne.

INTRODUCTION

Acne vulgaris is one of the most commonly diagnosed dermatological diseases [1, 2]. It occurs mainly in young people, especially between 11 and 30 years of age. It affects about 80% of people in this age group, and given the low severity of lesions, it affects everyone.

The aetiology of the disease is complex and not yet fully understood. There are four main factors that lead to formation of lesions: increased production of sebum and seborrhoea, hyperkeratosis of sebaceous glands and outlets, colonization of the sebaceous glands by *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) and development of an inflammatory reaction (participation of TLR – toll-like receptors). The exact

WPROWADZENIE

Trądzik pospolity jest jednym z najczęściej diagnozowanych schorzeń dermatologicznych [1, 2]. Występuje przede wszystkim u ludzi młodych, zwłaszcza między 11. a 30. rokiem życia. Dotyczy ok. 80% osób w tej grupie wiekowej, a biorąc pod uwagę małe nasilenie zmian chorobowych – u wszystkich.

Etiologia schorzenia jest złożona i jeszcze nie do końca poznana. Wyróżnia się cztery główne czynniki, które prowadzą do powstawania zmian chorobowych: zwiększona produkcja łoju i łojotok, hiperkeratoza przewodów wyprowadzających oraz ujść gruczołów łojowych, kolonizacja gruczołów łojowych przez bakterię *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*) oraz rozwój reakcji zapalnej (udział TLR – receptorów żeto-

sequence of these events is not yet fully understood [1–4].

TLRs play important roles in mechanisms of the innate immune response against microbes. They constitute a particularly important group of pattern recognition receptors (PRR), which are receptors for pathogen associated molecular patterns (PAMP) molecules, referred to as pathogen-associated molecular patterns. The following should be mentioned: components of the bacterial cell wall – lipopolysaccharide (LPS), which is the building block of the cellular wall of Gram-negative bacteria, teichoic acids – the basic component of the wall of Gram-positive bacteria, peptidoglycans, single- and double-stranded RNA of viruses, DNA containing unmethylated CpG sequences, lipoarabinomannan, N-formyl methionine as well as zymosan, mannans and mannosylated proteins that occur in the yeast wall [5, 6].

Signal transmission via TLR is a multi-stage process that requires the participation of various types of proteins. Of the known activation pathways, two seem to play a key role: MyD88 (myeloid differentiation factor 88)-dependent and MyD88-independent. The MyD88 protein activates the entire signalling cascade, including stimulation of the nuclear κ -light-chain-enhancer of activated B cells transcription factor (NF- κ B), which induces the production of pro-inflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6) or tumor necrosis factor- α (TNF- α). On the other hand, the MyD88-independent pathway takes part in the anti-viral response and is associated with production of, among others, INF- $\alpha/\beta/\gamma$ [7, 8].

Some TLRs are found on surface of cells (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 and TLR6) and their main role is to detect bacterial products in the extracellular space. They can also be located in intracellular compartments (e.g. TLR3, TLR7, TLR8, TLR9), demonstrating the ability to detect nucleic acids of bacterial or viral origin [33, 34].

Activation of TLR2 and TLR4 plays an important role in the aetiopathogenesis of acne vulgaris, leading to increased secretion of antimicrobial peptides, particularly of hBD-1 and hBD-2, which in turn has an impact on initiation of the immune response. Moreover, cytokines – stimulated by TLRs activation – activate metalloproteinases. This intensifies development of inflammation, causes destruction of the extracellular matrix, and results in the spread of inflammation to the surrounding tissues and, consequently, scar formation [9].

TLR2 activation within monocytes increases the production of TNF- α , IL-1 β , and IL-8, which in turn attracts lymphocytes and neutrophils to follicles. Moreover, TLR2 receptor-blocking antibodies reduce secretion of IL-12, which leads to the conclusion that

nowych). Dokładna sekwencja tych zdarzeń nie jest jeszcze w pełni poznana [1–4].

TLR pełnią istotne funkcje w mechanizmach wrodzonej odpowiedzi immunologicznej przeciwko drobnoustrojom. Stanowią szczególnie ważną grupę receptorów rozpoznających wzorce (*pattern recognition receptors* – PRR), które są receptorami dla cząstek PAMP (*pathogen associated molecular patterns*), określanych jako wzorce molekularne związane z patogenami. Należy tu wymienić przede wszystkim: składniki ściany komórkowej bakterii – lipopolisacharyd (LPS) będący budulcem ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych, kwasy teichoiczne stanowiące podstawowy składnik ściany bakterii Gram-dodatnich, peptydoglikany, jedno- i dwuniciowe RNA wirusów, DNA zawierające niemetylowane sekwencje CpG, lipoarabinomannan, N-formylową metioninę oraz zymosan, mannany i mannozylowane białka, które występują w ścianie drożdży [5, 6].

Przekaz sygnału za pośrednictwem TLR jest procesem wieloetapowym, wymagającym udziału różnego typu białek. Wydaje się, że spośród znanych dróg aktywacji dwie odgrywają kluczową rolę: zależna od białka MyD88 (*myeloid differentiation factor 88*) i niezależna od MyD88. Białko MyD88 powoduje uruchomienie całej kaskady sygnałów, w tym stymulacji jądrowego czynnika transkrypcyjnego łańcucha lekkiego κ aktywowanych komórek B (*kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* – NF- κ B), co indukuje wytwarzanie cytokin prozapalnych, takich jak interleukina 6 (IL-6) lub czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α). Z kolei droga niezależna od MyD88 bierze udział w odpowiedzi przeciw-wirusowej, wiąże się z produkcją między innymi INF- $\alpha/\beta/\gamma$ [7, 8].

Niektóre TLR występują na powierzchni komórek (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 i TLR6), ich główną rolą jest wykrywanie produktów bakteryjnych w przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Mogą być także zlokalizowane w kompartmentach wewnątrzkomórkowych (np. TLR3, TLR7, TLR8, TLR9) i wykazywać zdolność do detekcji kwasów nukleinowych pochodzenia bakteryjnego lub wirusowego [33, 34].

W etiopatogenezie trądziku pospolitego ważną rolę odgrywa aktywacja TLR2 i TLR4, która prowadzi do zwiększenia wydzielania peptydów przeciwdrobnoustrojowych, szczególnie hBD-1 i hBD-2, co z kolei ma wpływ na inicjowanie odpowiedzi immunologicznej. Ponadto cytokiny stymulowane aktywacją TLR aktywują metalloproteinazy, co nasila rozwój stanu zapalnego, powoduje destrukcję macierzy zewnątrzkomórkowej i w efekcie rozprzestrzenianie się stanu zapalnego na tkanki otaczające, a także tworzenie blizn [9].

Aktywacja TLR2 w obrębie monocytów nasila produkcję TNF- α , IL-1 β oraz IL-8, co z kolei przyciąga do mieszki limfocyty i neutrofile. Przeciwciała blokujące receptory TLR2 zmniejszają wydzielanie IL-12, co

activation of these transmembrane proteins also influences secretion of this cytokine [10, 11].

OBJECTIVE

The aim of the study was to evaluate the relationship between levels of IL-6, IL-8, IL-12p40 and C-reactive protein (CRP) in the blood serum of patients diagnosed with acne vulgaris and the severity of skin lesions in this group of patients. Obtained results were correlated with age, sex and duration of the disease, and compared with results obtained for the healthy control group.

This paper attempts to answer the following questions:

1. Are serum levels of IL-6, IL-8, IL-12p40 and CRP of acne vulgaris patients increased?
2. Is there a correlation between the serum level of IL-6, IL-8, IL-12p40 and CRP and severity of skin lesions in acne vulgaris based on the Food and Drug Administration (FDA) scale?

MATERIAL AND METHODS

The study group consisted of 47 patients suffering from acne vulgaris, including 37 women and 10 men, aged 18 to 34 years (mean age: 23.06 ± 3.73).

The control group consisted of 41 healthy volunteers, 21 women and 20 men, aged 22 to 34 years (mean age: 23.56 ± 2.31) (table 1).

The study group included: patients aged 18 to 40, diagnosed with acne vulgaris on the basis of clinical criteria, who gave informed and voluntary consent to participate in the study and make photographic documentation, receiving no systemic treatment (antibiotic therapy, steroid therapy, isotretinoin) for at least 3 months prior to donating a blood sample for testing, and receiving no topical treatment for acne vulgaris for 1 month prior to testing.

Pregnant and breastfeeding female patients and those with endocrine disorders such as: thyroid disease, adrenal gland disease, polycystic ovary syndrome, Cushing's disease, patients with acne inversa, patients addicted to alcohol and psychoactive substances, patients with HIV/AIDS, hepatitis B and C, those after transplantation of hematopoietic organs and cells, patients with a history of syphilis and tuberculosis, autoimmune diseases, other inflammatory diseases (asthma, atopic dermatitis, psoriasis vulgaris, psoriatic arthritis) and infectious diseases were excluded.

The criteria for the participation in the control group were the same, except for the diagnosis of acne vulgaris and its treatment.

pozwała wysunąć wniosek, że aktywacja tych białek przebłonowych wpływa również na wydzielanie tej cytokiny [10, 11].

CEL PRACY

Celem badania była ocena zależności między stężeniem IL-6, IL-8, IL-12p40 oraz białka C-reaktywnego (*C-reactive protein* – CRP) w surowicy pacjentów z rozpoznaniem trądzikiem pospolitym a nasileniem zmian skórnych. Wyniki skorelowano z wiekiem, płcią i czasem trwania choroby oraz zestawiono z rezultatami zdrowej grupy kontrolnej.

W niniejszej pracy podjęto próbę odpowiedzi na następujące pytania:

1. Czy w surowicy pacjentów chorujących na trądzik pospolity występuje podwyższone stężenie IL-6, IL-8, IL-12p40 oraz CRP?
2. Czy istnieje korelacja między stężeniem IL-6, IL-8, IL-12p40 i CRP w surowicy a nasileniem zmian skórnych w przebiegu trądziku pospolitego na podstawie skali amerykańskiej Agencji Żywności i Leków (FDA)?

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 47 pacjentów chorujących na trądzik pospolity, w tym 37 kobiet i 10 mężczyzn, w wieku od 18 do 34 lat (średnia wieku: 23,06 ± 3,73).

Grupę kontrolną stanowiło 41 zdrowych ochotników, w tym 21 kobiet i 20 mężczyzn, w wieku od 22 do 34 lat (średnia wieku: 23,56 ± 2,31) (tab. 1).

Do grupy badanej włączano pacjentów w wieku od 18 do 40 lat z rozpoznaniem trądziku pospolitego na podstawie kryteriów klinicznych, którzy wyrazili świadomą i dobrowolną zgodę na udział w badaniu oraz wykonanie dokumentacji fotograficznej, bez terapii ogólnej (antybiotykoterapia, glikokortykosteroidoterapia, izotretynoina), co najmniej 3 miesiące przed oddaniem próbki krwi do badania, bez terapii zewnętrznej trądziku zwykłego miesiąc przed badaniem.

Z badania wykluczono pacjentki w ciąży i karmiące piersią, z zaburzeniami endokrynologicznymi, takimi jak choroby tarczycy, nadnerczy, zespół policystycznych jajników, choroba Cushinga, pacjentów z rozpoznaniem trądziku odwróconego, chorych uzależnionych od alkoholu i substancji psychoaktywnych, pacjentów z HIV/AIDS, wirusowym zapaleniem wątroby typu B i C, po transplantacji narządów i komórek krwiotwórczych, z kiłą i gruźlicą w wywiadzie, chorobami autoimmunologicznymi, innymi chorobami zapalnymi (astma, atopowe zapalenie skóry, łuszczyca zwykła, łuszczycowe zapalenie stawów) i infekcyjnymi.

Table 1. Characteristics of the study and control group
Tabela 1. Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej

| Age [years]/ Wiek [lata] | All/Wszyscy | | Women/Kobiety | | Men/Mężczyźni | |
|---|---|-------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|-------------------------------------|
| | Study group/ Grupa badana | Control group/Grupa kontrolna | Study group/ Grupa badana | Control group/Grupa kontrolna | Study group/ Grupa badana | Control group/Grupa kontrolna |
| Mean/Średnia | 23.06 | 23.56 | 23.78 | 23.00 | 20.40 | 24.15 |
| Median/Mediana | 23.0 | 23.0 | 23.0 | 22.0 | 19.0 | 23.0 |
| 25% quartile/Kwartyl 25% | 22.0 | 22.0 | 22.0 | 22.0 | 18.0 | 22.5 |
| 75% quartile/Kwartyl 75% | 25.0 | 24.0 | 25.0 | 23.0 | 23.0 | 25.0 |
| Standard deviation/Odchylenie standardowe | 3.73 | 2.31 | 3.68 | 1.67 | 2.59 | 2.76 |
| Standard error/Błąd standardowy | 0.54 | 0.36 | 0.61 | 0.37 | 0.82 | 0.62 |
| Minimum/Minimum | 18 | 22 | 18 | 22 | 18 | 22 |
| Maximum/Maksimum | 34 | 32 | 34 | 28 | 25 | 32 |
| N/N | 47 | 41 | 37 | 21 | 10 | 20 |
| Shapiro-Wilk test/Test Shapiro-Wilka | $p = 0.0005$ | $p = 0.0001$ | $p = 0.0011$ | $p = 0.0001$ | $p = 0.0382$ | $p = 0.0012$ |
| Inter-group comparison: study group vs. control group/Porównanie międzygrupowe: badana vs kontrolna | $p^{**} = 0.4005$ | | $p^{**} = 0.3766$ | | $p^{**} = 0.0032$ | |
| | *t-Student test/Test t-Studenta; **U Mann-Whitney test/Test U Manna-Whitneya | | | | | |
| Intragroup comparison: women vs. men/Porównanie wewnątrzgrupowe: kobiety vs mężczyźni | Study group: $p^{**} = 0.0234$ /Grupa badana: $p^{**} = 0,0234$ Control group: $p^{**} = 0.0828$ / Grupa kontrolna: $p^{**} = 0.0828$ | | | | | |
| | *t-Student test/Test t-Studenta; **U Mann-Whitney test/Test U Manna-Whitneya | | | | | |

The FDA scale was used to assess severity of the disease: 0 – normal, clean skin without visible acne lesions; 1 – the skin is almost clean, with occasional non-inflammatory patches visible, with rare non-inflammatory papules (papules must be separated and may be discoloured, but not pink-red); 2 – present non-inflammatory lesions with several inflammatory eruptions (only papules/pustules, no nodular-cystic lesions); 3 – non-inflammatory lesions predominate, with numerous inflammatory eruptions, from few to many comedones and papules/pustules, with or without single small nodular-cystic lesions; 4 – inflammatory lesions are more severe: multiple comedones and papules/pustules with or without several nodular cystic eruptions; 5 – high intensity inflammatory changes predominate: a varied number of comedones, many papules/pustules and nodular and cystic eruptions.

Serum IL-6, IL-8, IL-12p40 and CRP levels were measured in all participants. Serum levels of IL-6, IL-8 and IL-12 p40 of volunteers were determined by immunoenzymatic assay ELISA (Wuhan Fine Biological Technology Co., Ltd). In turn, CRP was tested using the immunoenzymatic ELISA method (Labor Diagnostika Nord GmbH & Co.KG). All analyses were performed in repetitions, and the obtained result was the arithmetic mean of two measurements.

Kryteria dla grupy kontrolnej były takie same, z wyjątkiem rozpoznania trądziku pospolitego i jego leczenia.

Do oceny ciężkości procesu chorobowego w przebiegu trądziku zwykłego posłużono się skalą wg FDA: 0 – normalna, skóra bez widocznych zmian trądzikowych; 1 – skóra jest prawie bez zmian, widoczne sporadyczne niezapalne wykwity z rzadko pojawiającymi się niezapalnymi grudkami (grudki muszą być rozdzielone i mogą być przebarwione, lecz nie różowo-czerwone); 2 – obecne niezapalne zmiany z kilkoma wykwitami zapalnymi (tylko grudki lub krosty, bez zmian guzkowo-torbielowatych); 3 – przeważają zmiany niezapalne z wieloma widocznymi wykwitami zapalnymi, od kilku do wielu zaskórników i grudki lub krosty z występowaniem lub bez występowania pojedynczych małych zmian guzkowo-torbielowatych; 4 – zapalne zmiany są bardziej nasilone: wiele zaskórników i grudek lub krost z występowaniem lub bez występowania kilku wykwitów guzkowo-torbielowatych; 5 – przeważają zmiany zapalne o dużym nasileniu, zróżnicowana liczba zaskórników, wiele grudek lub krost i wykwitów guzkowo-torbielowatych.

U wszystkich biorących udział w badaniu oznaczono stężenie IL-6, IL-8, IL-12p40 oraz CRP w surowicy. Stężenia IL-6, IL-8 i IL-12p40 w surowicy ochotników oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA (Wuhan Fine Biological Technology Co., Ltd). CRP zbadano metodą immunoenzymatyczną ELISA (Labor Dia-

The study was approved by Bioethical Committee of the Silesian Medical Chamber in Katowice, decision No. 44/2015 of 30.11.2015.

Statistical analysis

The clinical material database was created in a Microsoft Excel spreadsheet. Statistical calculations were performed with the use of licensed statistical suites: Statistica v. 7.1 PL by StatSoft and MedCalc Statistical Software v.14.10.2 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium).

In the first stage of the study, the basic characteristics of descriptive statistics were determined for the features characterized by a measurable scale, such as: mean, standard deviation, minimum value, maximum value, median, quartiles.

In the next stage, the Shapiro-Wilk test, the Student's *t*-test, the Fisher test, the Mann-Whitney *U* rank sum test, the chi-square test of independence (χ^2) with the assessment based on the maximum likelihood analysis were used.

Taking into account the nature of a given variable, as well as the results of the residual analysis, the Pearson's linear correlation test or the non-parametric Spearman's rank correlation test were used in the analysis of the correlation between the studied variables.

The level of significance (type 1 error) of $p(\alpha) < 0.05$ was adopted in the statistical analysis.

RESULTS

Distribution of IL-6 level

Results presented in table 1 show that there is a statistically significant difference in serum IL-6 concentrations between the study and control group ($p = 0.0319$). People with acne vulgaris have higher IL-6 levels. The level ranges from 1.39 to 67.41 pg/ml (median: 4.8 pg/ml), while in healthy people it ranges from 1.00 to 14.24 pg/ml (median: 4.0 pg/ml).

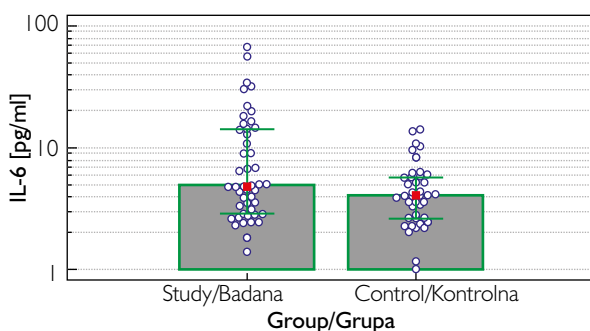


Figure 1. IL-6 levels in study groups

Rycina 1. Stężenie IL-6 w badanych grupach

agnostika Nord GmbH & Co.KG). Wszystkie analizy wykonano w duplecie, a za wynik przyjęto średnią arytmetyczną z dwóch pomiarów.

Badanie uzyskało pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Śląskiej Izby Lekarskiej w Katowicach nr 44/2015 z 30 listopada 2015 r.

Analiza statystyczna

Baza danych materiału klinicznego została utworzona w arkuszu kalkulacyjnym Microsoft Excel. Obliczenia statystyczne przeprowadzono z wykorzystaniem licencjonowanych pakietów statystycznych: Statistica v. 7.1 PL firmy StatSoft oraz MedCalc Statistical Software v.14.10.2 (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium).

W pierwszym etapie badania dla cech charakteryzujących się skalą mierzalną wyznaczono podstawowe charakterystyki statystyki opisowej, takie jak średnia, odchylenie standardowe, wartość minimalna, wartość maksymalna, mediana, kwartyle.

W następnym etapie stosowano test Shapiro-Wilka, test *t*-Studenta, test Fishera, test sumy rang *U* Manna-Whitneya, test niezależności chi-kwadrat (χ^2) z oceną opartą na analizie największej wiarygodności (NW).

Ze względu na charakter danej zmiennej, a także wyniki analizy reszt w analizie korelacji pomiędzy badanymi zmiennymi wykorzystano test korelacji liniowej Pearsona lub nieparametryczny test korelacji rang Spearmana.

W analizie statystycznej przyjęto poziom istotności (błąd I rodzaju): $p(\alpha) < 0,05$.

WYNIKI

Rozkład stężenia IL-6

Wyniki przedstawione w tabeli 1 wykazują, że istnieje istotna statystycznie różnica stężeń IL-6 w surowicy między grupą badaną i kontrolną ($p = 0,0319$). U osób chorujących na trądzik pospolity stężenie IL-6 jest wyższe. Mieści się ono w przedziale 1,39–67,41 pg/ml (mediana: 4,8 pg/ml), a u osób zdrowych od 1,00 do 14,24 pg/ml (mediana: 4,0 pg/ml).

Stwierdzono ponadto, że stężenia IL-6 wśród mężczyzn w obu grupach są odmienne ($p = 0,0042$), czego nie wykazano u kobiet ($p = 0,3735$). Zaobserwowano także istotną różnicę stężeń badanej cytokiny między kobietami i mężczyznami w grupie badanej ($p = 0,0086$). U kobiet stężenia IL-6 w surowicy były niższe (mediana: 4,7 pg/ml). Zależności tej nie stwierdzono w grupie kontrolnej ($p = 0,7942$) (ryc. 1).

Rozkład stężenia IL-8

Porównanie stężenia IL-8 w surowicy grupy badanej i kontrolnej nie wykazało statystycznie istotnej różnicy ($p = 0,1037$). Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

Table 2. IL-8 levels in study groups, taking account sex**Tabela 2.** Stężenie IL-8 w badanych grupach z uwzględnieniem płci

| IL-8 [pg/ml] | All/group/Wszyscy/grupa | | Women/group/Kobiety/grupa | | Men/group/Mężczyźni/grupa | |
|---|---|-----------------------|---------------------------|-----------------------|--|-----------------------|
| | Study/ Badana | Control/ Kontrolna | Study/ Badana | Control/ Kontrolna | Study/ Badana | Control/ Kontrolna |
| Mean/Średnia | 10.66 | 7.65 | 9.29 | 8.32 | 15.72 | 6.94 |
| Median/Mediana | 7.8 | 4.4 | 7.7 | 4.8 | 18.4 | 3.9 |
| 25% quartile/Kwartyl 25% | 3.7 | 3.2 | 4.0 | 3.3 | 3.7 | 3.0 |
| 75% quartile/Kwartyl 75% | 13.2 | 8.2 | 11.7 | 8.2 | 25.3 | 7.5 |
| Standard deviation/Odchylenie standardowe | 9.56 | 7.66 | 8.55 | 8.78 | 11.76 | 6.43 |
| Standard error/Błąd standardowy | 1.39 | 1.20 | 1.41 | 1.92 | 3.72 | 1.44 |
| Minimum/Minimum | 0.82 | 1.18 | 0.82 | 2.59 | 1.31 | 1.18 |
| Maximum/Maksimum | 38.90 | 34.57 | 38.90 | 34.57 | 33.80 | 25.07 |
| N/N | 47 | 41 | 37 | 21 | 10 | 20 |
| Shapiro-Wilk test/Test Shapiro-Wilka | $p = 0.0001$ | $p = 0.0001$ | $p = 0.0001$ | $p = 0.0001$ | $p = 0.2055$ | $p = 0.0001$ |
| Inter-group comparison: study group vs. control group/Porównanie międzygrupowe: badana vs kontrolna | $p^{**} = 0.1037$ | | $p^{**} = 0.4232$ | | $p^{**} = 0.0946$ | |
| | *t-Student test/*Test t-Studenta; **U Mann-Whitney test/**Test U Manna-Whitneya | | | | | |
| Intragroup comparison: women vs. men/Porównanie wewnątrzgrupowe: kobiety vs mężczyźni | Study group: $p^{**} = 0.2527$ /Grupa badana: $p^{**} = 0,2527$ | | | | Control group: $p^{**} = 0.6764$ /Grupa kontrolna: $p^{**} = 0,6764$ | |
| | *t-Student test/*Test t-Studenta; **U Mann-Whitney test/**Test U Manna-Whitneya | | | | | |

Moreover, it was shown that IL-6 levels in males in both groups were different ($p = 0.0042$), which was not demonstrated in females ($p = 0.3735$). There was also a significant difference in the concentration of the tested cytokine between women and men in the study group ($p = 0.0086$). Female subjects had a lower serum level of IL-6 (median: 4.7 pg/ml). This relationship was not observed in the control group ($p = 0.7942$) (fig. 1).

Distribution of IL-8 level

The comparison of serum IL-8 level of volunteers in both groups showed no statistically significant difference ($p = 0.1037$). The results are shown in table 2.

There were also no significant differences in the level of the tested interleukin among women and men between the study group and the control group ($p = 0.4232$; 0.0946 , respectively), as well as between the females and males within these groups ($p = 0.2527$; 0.6764).

Distribution of IL-12p40 level

Table 3 presents the difference in serum IL-12p40 levels of volunteers in both groups ($p = 0.0011$). In people suffering from acne vulgaris, a lower concentration of IL-12p40 was found. It ranged from 20.60 to 222.43 pg/ml (median: 82.1 pg/ml), while in healthy subjects it ranged from 38.96 to 389.01 pg/ml (median: 105.8 pg/ml) (fig. 2).

Nie stwierdzono także znaczących odmienności stężeń badanej interleukiny wśród kobiet oraz mężczyzn między grupą badaną i kontrolną (odpowiednio $p = 0,4232$; $0,0946$), a także pomiędzy kobietami i mężczyznami w tych grupach (odpowiednio $p = 0,2527$; $0,6764$).

Rozkład stężenia IL-12p40

W tabeli 3 przedstawiono różnicę stężeń IL-12p40 w surowicy grupy badanej i kontrolnej ($p = 0,0011$). U osób z trądzikiem pospolitym stwierdzono niższe stężenie IL-12p40 – w granicach 20,60–222,43 pg/ml (mediana: 82,1 pg/ml), a u osób zdrowych 38,96–389,01 pg/ml (mediana: 105,8 pg/ml) (ryc. 2).

Rozkład stężenia CRP

W tabeli 4 przedstawiono istotną różnicę w zakresie stężenia CRP między grupą badaną i kontrolną ($p = 0,0013$). U pacjentów z trądzikiem pospolitym stężenie CRP jest wyższe. Mieści się w granicach 49,1–1295329,2 ng/ml (mediana: 12472,6 ng/ml), a u osób zdrowych 25,1–62794,3 ng/ml (mediana: 4054,1 ng/ml) (ryc. 3).

Korelacja pomiędzy stężeniem IL-6, IL-8, IL-12p40 i CRP a nasileniem zmian skórnych w przebiegu trądziku pospolitego na podstawie skali FDA

W ocenie zależności pomiędzy stężeniami IL-6, IL-8, IL-12p40 i CRP a skalą FDA, będącą zmien-

Table 3. Correlation between IL-6, IL-8, IL-12p40 and CRP levels and severity of skin lesions (FDA scale)**Tabela 3.** Zależność pomiędzy stężeniami IL-6, IL-8, IL-12p40 i CRP a nasileniem zmian skórnych (skala FDA)

| Correlated variables/Korelowane zmienne | N/N | R Spearman/R Spearmana | P-value/Wartość p |
|---|-----|------------------------|-------------------|
| FDA and IL-6/FDA i IL-6 | 47 | 0.6963 | < 0.0001 |
| FDA and IL-8/FDA i IL-8 | 47 | 0.1538 | 0.3019 |
| FDA and IL-12p40/FDA i IL-12p40 | 47 | 0.3155 | 0.0607 |
| FDA and CRP/FDA i CRP | 47 | 0.3501 | 0.0159 |

Distribution of CRP level

Table 4 shows a significant difference in the level of CRP between the study and control group ($p = 0.0013$). Patients with acne vulgaris had higher CRP levels. It ranged from 49.1 to 1295329.2 ng/ml (median: 12472.6 ng/ml), while in healthy subjects the level ranged from 25.1 to 62794.3 ng/ml (median: 4054.1 ng/ml) (fig. 3).

Correlation between levels of IL-6, IL-8, IL-12p40 and CRP and the severity of skin changes in acne vulgaris, based on the FDA scale

The assessment of a relationship between levels of IL-6, IL-8, IL-12p40 and CRP and the FDA scale, which is an ordinal variable characterizing the severity of skin lesions in acne vulgaris (table 3) it was found that the level of IL-6 was positively correlated with severity of skin lesions in acne vulgaris ($p < 0.0001$). This is quite a strong correlation ($R_{\text{Spearman}} = 0.6963$). As the serum concentration of IL-6 increases, the disease becomes more severe. It was noted that this applies to a similar degree to both inflammatory and non-inflammatory changes.

It was also shown that the CRP level was significantly positively correlated with severity of skin lesions ($p = 0.0159$), but the correlation was weak ($R_{\text{Spearman}} = 0.3501$).

ną porządkową charakteryzującą nasilenie zmian skórnych w przebiegu trądziku pospolitego (tab. 3), stwierdzono, że stężenie IL-6 koreluje istotnie dodatnio ze stopniem nasilenia zmian skórnych w przebiegu trądziku ($p < 0,0001$). Jest to korelacja dość silna ($R_{\text{Spearmana}} = 0,6963$). Wraz ze wzrostem stężenia IL-6 w surowicy przebieg choroby jest cięższy. Zwrócono uwagę, że dotyczy to w zbliżonym stopniu zmian zapalnych i niezapalnych.

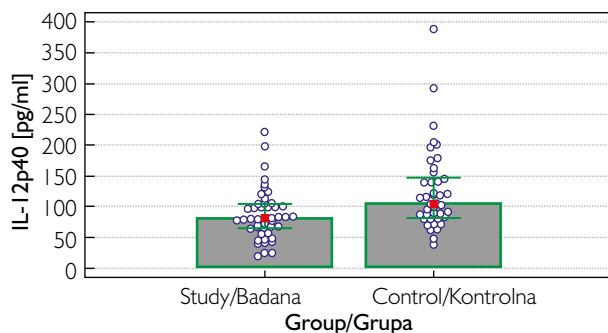
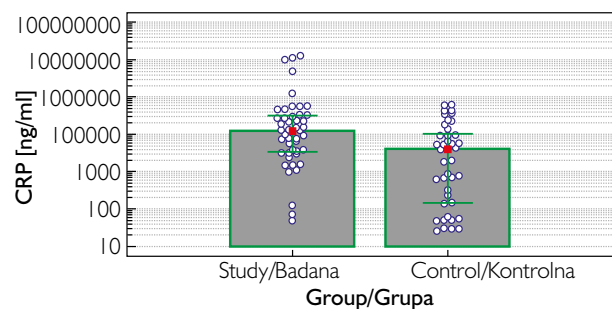
Wykazano również, że stężenie CRP koreluje istotnie dodatnio ze stopniem nasilenia zmian skórnych ($p = 0,0159$), ale jest to korelacja słaba ($R_{\text{Spearmana}} = 0,3501$).

OMÓWIENIE

Przez lata trądzik pospolity traktowano jako chorobę infekcyjną skóry. Liczne badania wykazały jednak, że procesy zapalne i immunologiczne poprzedzają zaburzenia rogowacenia, co odgrywa kluczową rolę w etiopatogenezie tego schorzenia [12].

Aktywacja receptorów TLR oraz uruchomienie całej kaskady zdarzeń na poziomie jednostki włosowo-łojowej, hydroliza triglicerydów do wolnych kwasów tłuszczowych, wytwarzanie substancji o właściwościach chemotaktycznych, a także produkcja cytokin prozapalnych (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 i TNF- α) wpływają na rozwój reakcji zapalnej.

Ludzkie sebocyty mają właściwości prozapalne w związku z produkcją peptydów przeciwdrobn-

**Figure 2.** IL-12p40 levels in study groups**Rycina 2.** Stężenie IL-12p40 w badanych grupach**Figure 3.** CRP levels in study groups**Rycina 3.** CRP w badanych grupach

DISCUSSION

For years, *acne vulgaris* has been treated as an infectious skin disease. However, numerous studies indicate that inflammatory and immunological processes precede keratinization disorders, which plays a key role in the aetiopathogenesis of this disease [12].

Activation of TLR receptors and of the entire cascade of events at the level of the hair-sebaceous unit, hydrolysis of triglycerides to free fatty acids, production of substances possessing chemotactic properties, as well as production of pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 and TNF- α) influence the development of the inflammatory response.

Human sebocytes exhibit pro-inflammatory properties associated with the production of antimicrobial peptides, cytokines and chemokines through the activation of TLR2 and TLR4 receptors. Moreover, they are a source of various adipokines, such as adiponectin, IL-6, leptin, serpin E1, resistin, and visfatin, which suggests that there is a relationship between the development of an inflammatory reaction and lipid metabolism, similar to adipocytes of adipose tissue [13].

Keratinocytes play an important role in skin inflammatory responses by synthesizing a variety of cytokines and growth factors.

In this study, serum levels of IL-6, IL-8, IL-12p40 and CRP of patients with *acne vulgaris* was assessed, and the relationship between the studied parameters and the severity of skin lesions in this group of patients was analysed.

In this study, IL-6 was one of the determined cytokines, due to its diverse biological functions. It is produced by monocytes, mast cells, fibroblasts and cancer cells [14, 15]. Human keratinocytes stimulated with IL-17 or IL-36 can also be an important source of IL-6 [16]. On the other hand, IL-6 is able to induce the release of other pro-inflammatory cytokines, such as IL-17 or IL-23 from neutrophils [15].

The authors' own studies showed that the concentration of IL-6 in the serum of *acne vulgaris* patients, especially in males, was higher than in healthy subjects. A significant relationship between the increased release of IL-6 and severity of skin lesions ($p < 0.0001$), but not duration of the disease, was shown.

Increased IL-6 expression in the serum of patients with *rosacea* was demonstrated by the studies of Salamon *et al.* [17], which suggests that this cytokine may also play a role in the aetiopathogenesis of this disease.

Main components of free fatty acids (FFA) secreted by the sebaceous glands are: linoleic acid (LA), palmitic acid (PA) and oleic acid (OA). It was noticed that in the course of *acne vulgaris* the concentration of LA in comedones was significantly reduced, while the level of PA was significantly higher. Therefore, Zhou *et al.* [18] analysed the effect of PA on the HaCaT keratino-

ustrojowych, cytokin i chemokin, poprzez aktywację receptorów TLR2 i TLR4. Ponadto są źródłem rozmaitych adipokin, takich jak adiponektyna, IL-6, leptyna, serpina E1, rezystyna, wisfatyna, co sugeruje, że istnieje zależność między rozwojem reakcji zapalnej a metabolizmem lipidów, podobnie jak w adipocytach tkanki tłuszczowej [13].

Keratynocyty odgrywają istotną rolę w reakcjach zapalnych skóry, syntetyzując różnorodne cytokiny i czynniki wzrostu.

W przedstawionym badaniu oceniono stężenie IL-6, IL-8, IL-12p40 oraz CRP w surowicy pacjentów z trądzikiem pospolitym oraz poddano analizie zależności między badanymi parametrami a nasileniem zmian skórnych w tej grupie chorych.

Jedną z oznaczonych cytokin była IL-6 ze względu na jej różnorodne funkcje biologiczne. Jest ona produkowana przez monocyty, mastocyty, fibroblasty i komórki nowotworowe [14, 15]. Jej istotnym źródłem mogą być również ludzkie keratynocyty, stymulowane IL-17 lub IL-36 [16]. IL-6 jest także zdolna do indukcji uwalniania innych cytokin prozapalnych, takich jak IL-17 czy IL-23, przez neutrofile [15].

W badaniach własnych wykazano, że stężenie IL-6 w surowicy pacjentów z trądzikiem pospolitym, zwłaszcza mężczyzn, jest wyższe niż u osób zdrowych. Przedstawiono istotną zależność między zwiększonym uwalnianiem IL-6 a nasileniem zmian skórnych w przebiegu choroby ($p < 0,0001$), ale nie z czasem jej trwania.

Wzrost ekspresji IL-6 w surowicy pacjentów z trądzikiem różowatym udowodniły badania Salamon i wsp. [17], co sugeruje, że cytokina ta może także odgrywać rolę w etiopatogenezie tego schorzenia.

Do głównych składników wolnych kwasów tłuszczowych (*free fatty acids* – FFA) wydzielanych przez gruczoły łojowe należą kwasy: linolowy (*linoleic acid* – LA), palmitynowy (*palmitic acid* – PA) oraz oleinowy (*oleic acid* – OA). Zauważono, że w przebiegu trądziku pospolitego w obrębie zaskórników stężenie LA jest znacznie obniżone, podczas gdy PA jest istotnie wyższe. W związku z tym Zhou i wsp. [18] przeanalizowali wpływ PA na linię keratynocytów HaCaT i uzyskali zwiększoną sekrecję IL-6, IL-1 β oraz TNF- α .

Kolejną cytokiną badaną w niniejszej pracy była IL-8, której istotnym źródłem są keratynocyty, w odpowiedzi na stymulację tkankowego aktywatora plazminogenu. IL-8 wzmacnia migrację i adhezję tych komórek, bierze udział w procesie leczenia ran, stymulując ich naskórkowanie [19].

Zwiększona ekspresja IL-8 przez komórki śródbłonna i neutrofile koreluje z rozmieszczeniem odpowiedzi zapalnej w obrębie skóry oraz stymuluje wytwarzanie naczyń [19], odgrywając kluczową rolę w zainicjowaniu zapalenia w ich obrębie [120].

cyte line, obtaining increased secretion of IL-6, IL-1 β and TNF- α .

Another cytokine investigated in this study was IL-8, an important source of which are keratinocytes, in response to stimulation of the tissue plasminogen activator. IL-8 enhances the migration and adhesion of these cells, participates in the process of wound healing, stimulating epithelialisation [19].

Increased IL-8 expression by endothelial cells and neutrophils correlates with distribution of the inflammatory response within the skin and stimulates vascular production [19], playing a key role in initiation of intravascular inflammation [20]. In our own research, no statistically significant difference was found in the serum IL-8 level between the study group and the control group. There was also no correlation between IL-8 expression and duration, and severity of lesions.

On the other hand, different research results may be found in literature reports than in our own material.

Sugisaki *et al.* [21] showed that *C. acnes* induced production of IL-8 by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in acne vulgaris patients. Because of that, the concentration of IL-8 was increased in this group of patients. According to the authors, a significant increase in the release of IL-8 from PBMCs indicated the presence of non-specific PBMC hypersensitivity to *C. acnes* or activation of these cells by mechanisms that have not been explained so far.

On the other hand, Zhong-Yong *et al.* [22] observed increased TLR2 expression in PBMCs, as well as increased levels of IL-8 and TNF- α in the serum of patients with mild, moderate and severe acne vulgaris. They also found that there was a correlation between TLR2 expression and the concentration of IL-8 and TNF- α , as well as the severity of skin lesions in this group of patients.

The fact of receiving such divergent research results in my own work and in publications presented by other researchers seems puzzling. Does the geographic area inhabited by analysed acne vulgaris patients, as well as other factors such as the nature of work, type of diet, exposure to ultraviolet radiation or smoking, influence the expression of pro-inflammatory cytokines, and thus the onset and severity of the disease?

Sahib *et al.* [23] determined the serum level of IL-8, glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in 56 patients with acne vulgaris and 28 healthy volunteers (the control group). In patients with acne vulgaris, significantly elevated serum levels of IL-8 were found ($p \leq 0.05$), which indicated a key role of inflammation in the aetiopathogenesis of this disease.

Another parameter analysed by the authors was IL-12p40. Elevated levels of IL-12 have been shown, among others, in patients suffering from inflammatory bowel diseases – Crohn's disease, ulcerative colitis and rheumatoid arthritis, both in serum and in synovial fluid collected for tests from inflammation-occupied joints

W badaniach własnych nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pod względem stężenia IL-8 w surowicy pomiędzy grupą badaną i kontrolną. Nie zaobserwowano także zależności między ekspresją IL-8 a czasem trwania i nasileniem zmian chorobowych.

W piśmiennictwie można jednak znaleźć odmiennie wyniki badań niż w materiale własnym.

Sugisaki i wsp. [21] wykazali, że *C. acnes* indukuje produkcję IL-8 przez komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (*peripheral blood mononuclear cells* – PBMC) u chorych z trądzikiem pospolitym, dlatego stężenie IL-8 jest podwyższone w tej grupie chorych. Zdaniem autorów znaczący wzrost uwalniania IL-8 z PBMC świadczy o występowaniu niespecyficznego nadwrażliwości PBMC na *C. acnes* albo aktywacji tych komórek przez niewyjaśnione dotąd mechanizmy.

Zhong-Yong i wsp. [22] uzyskali natomiast zwiększoną ekspresję TLR2 w PBMC, a także podwyższone stężenie IL-8 i TNF- α w surowicy pacjentów z łagodną, umiarkowaną i ciężką postacią trądziku zwykłego. Stwierdzili też, że istnieje związek między ekspresją TLR2 a stężeniem IL-8 i TNF- α oraz nasileniem zmian skórnych w tej grupie chorych.

Zastanawiający wydaje się fakt otrzymania tak rozbieżnych wyników badań w pracy własnej oraz w publikacjach przedstawionych przez innych badaczy. Czyżby obszar geograficzny zamieszkiwany przez chorych z trądzikiem pospolitym, u których przeprowadzono eksperymenty medyczne, a także inne czynniki, takie jak charakter pracy, rodzaj stosowanej diety, ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe lub palenie papierosów, miały wpływ na ekspresję cytokin prozapalnych, a także zapoczątkowanie i nasilenie procesu chorobowego?

Sahib i wsp. [23] oznaczyli stężenie IL-8, glutationu (*glutathione* – GSH) i dialdehydu malonowego (*malondialdehyde* – MDA) w surowicy 56 pacjentów z trądzikiem pospolitym i 28 zdrowych ochotników stanowiących grupę kontrolną. U chorych z trądzikiem stwierdzili znacznie podwyższone stężenie IL-8 w surowicy ($p \leq 0,05$), co wskazuje na kluczową rolę stanu zapalnego w etiopatogenezie tego schorzenia.

Kolejnym parametrem, oznaczonym przez autorów, była IL-12p40. Podwyższone stężenie IL-12 wykazano między innymi u pacjentów ze schorzeniami zapalnymi jelit – chorobą Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego oraz reumatoidalnym zapaleniem stawów, zarówno w surowicy, jak i w płynie maziowym pobieranym do badań ze zmienionych zapalnie stawów [24]. Zwiększoną ekspresję IL-12 w surowicy wykazano u chorych z łysieniem plackowatym, skórą postaćią tocznia rumieniowatego i w przebiegu stwardnienia rozsianego [25].

W przebadanej grupie pacjentów z trądzikiem nie stwierdzono podwyższonego stężenia IL-12p40.

[24]. Moreover, increased serum expression of IL-12 was demonstrated in patients with alopecia areata, cutaneous lupus erythematosus and in the course of multiple sclerosis [25].

In the studied group of patients, no increased levels of IL-12p40 were found. On the contrary, it was found that in this group of patients the concentration of IL-12p40 was lower, particularly in women. There was also no relationship between the level of IL-12p40 and the duration and severity of skin lesions.

Completely different results were presented in another study [25]. The authors determined the serum concentration of IL-12 in 27 patients with inflammatory form of acne (IAV) and 27 healthy volunteers. In patients with IAV, a higher concentration of IL-12 was found ($p < 0.05$). No statistical correlation between IL-12 expression and the severity and duration of the disease was reported.

Palma *et al.* [26] analysed the local production of IL-12, IL-2 and IFN- γ using the ELISA technique in skin biopsies of 40 patients with IAV. The presence of IL-12 was demonstrated in 28% of patients, IFN- γ was detected in 82% of cases, and IL-2 was detected in 57% of patients. This cytokine stimulates NK cells and contributes to the differentiation of Th0 cells into Th1 cells. Consequently, these cells stimulate the production of IFN- γ , activating macrophages to better control of *C. acnes*.

On the other hand, Sugisaki *et al.* [21] noted that in patients with acne vulgaris the production of IFN- γ and IL-12p40 in PBMCs was significantly increased. IFN- γ production is regulated by IL-12, induced by IL-18 expression. *C. acnes* enhances the release of IL-12p40 from monocytes and macrophages due to TLR2 stimulation. Extrinsic *C. acnes* stimulates the production of IFN- γ in mice, which correlates with an increase in the concentration of IL-18 in the plasma. The authors showed no effect of *C. acnes* on the expression of IL-18 mRNA from PBMCs. Anwar *et al.* [27] determined the concentrations of IL-8, IL-12 and TNF- α in 83 patients with acne vulgaris. Among these three pro-inflammatory cytokines, the highest concentration in patients with severe form of the disease, with a predominance of pustules in the clinical presentation, was demonstrated for IL-8, as compared to IL-12 and TNF- α .

In turn, in the experiment carried out by us, the highest concentration in the serum of acne patients was demonstrated for IL-6. Contrary to the results published by other investigators, there was no statistically significant difference between the serum IL-8 level of volunteers from the study and control groups. On the other hand, it was observed that the IL-12p40 level was reduced in patients with acne vulgaris. So, what can be the reason for obtaining such divergent test results?

Caillon *et al.* [28] noted a disturbed balance between the production of proinflammatory and anti-inflam-

Wśród przeciwnie – w tej grupie chorych stężenie IL-12p40 było niższe, zwłaszcza u kobiet. Nie zauważono także zależności między stężeniem IL-12p40 a czasem trwania oraz nasileniem zmian skórnych.

Zupełnie odmienne wyniki przedstawiono w innym badaniu [25]. Autorzy oznaczyli stężenie IL-12 w surowicy 27 pacjentów z zapalną postacią trądziku pospolitego (*inflammatory acne vulgaris* – IAV) oraz u 27 zdrowych ochotników. U chorych z IAV stwierdzono wyższe stężenie IL-12 ($p < 0,05$). Nie opisano istotnej statystycznie korelacji między ekspresją IL-12 a nasileniem i czasem trwania procesu chorobowego.

Palma i wsp. [26] analizowali miejscową produkcję IL-12, IL-2 i IFN- γ za pomocą techniki ELISA w biopsjach skóry 40 pacjentów z IAV. U 28% chorych stwierdzono obecność IL-12, w 82% przypadków IFN- γ , a u 57% pacjentów IL-2. Cytokina ta stymuluje komórki NK i przyczynia się do różnicowania komórek Th0 do komórek Th1. W konsekwencji stymulują one produkcję IFN- γ , aktywując makrofagi do lepszej kontroli *C. acnes*.

Sugisaki i wsp. [21] zauważyli natomiast, że u pacjentów z trądzikiem pospolitym produkcją IFN- γ i IL-12p40 jest znacznie zwiększona przez PBMC. Wytwarzanie IFN- γ jest regulowane przez IL-12, indukowaną ekspresją IL-18. *C. acnes* wzmacnia uwalnianie IL-12p40 z monocytów i makrofagów wskutek stymulacji receptorów TLR2. Zewnątrzpochodna *C. acnes* pobudza produkcję IFN- γ u myszy, co koreluje ze wzrostem stężenia IL-18 w osoczu. Autorzy nie wykazali wpływu *C. acnes* na ekspresję IL-18 mRNA z PBMC. Anwar i wsp. [27] oznaczyli stężenia IL-8, IL-12 i TNF- α u 83 pacjentów z trądzikiem pospolitym. Spośród tych trzech cytokin prozapalnych najwyższe stężenie u pacjentów z ciężką postacią schorzenia, z przewagą krost w obrazie klinicznym, wykazała IL-8.

W eksperymencie przeprowadzonym przez autorów niniejszej pracy najwyższe stężenie w surowicy pacjentów z trądzikiem miała IL-6. W przeciwieństwie do wyników opublikowanych przez innych badaczy nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między stężeniem IL-8 w surowicy osób z grupy badanej i kontrolnej. Zaobserwowano natomiast, że u pacjentów z trądzikiem pospolitym stężenie IL-12p40 jest obniżone. Co jest zatem przyczyną tak odmiennych wyników badań?

Caillon i wsp. [28] odnotowali zaburzoną równowagę między produkcją cytokin prozapalnych i przeciwzapalnych przez PBMC u pacjentów z trądzikiem pospolitym w porównaniu ze zdrową grupą kontrolną. Do grupy badanej zakwalifikowano 47 osób, w tym 27 mężczyzn i 20 kobiet. Grupę kontrolną stanowiło 40 zdrowych ochotników obu płci (15 mężczyzn i 25 kobiet). Autorzy stwierdzili, że wydzielanie zarówno IL-8, jak i TNF- α przez PBMC

matory cytokines by PBMCs in patients with acne vulgaris in comparison with healthy controls. Forty-seven people were qualified to the study group, including 27 men and 20 women. The control group consisted of 40 healthy volunteers of both sexes (15 men and 25 women). The authors found that the secretion of both IL-8 and TNF- α by PBMCs was significantly increased in patients with acne vulgaris. The reason for this was the stimulation of TLR2 receptors by *C. acnes*. However, no significant differences in the secretion of the p40 subunit of the IL-12/IL-23 pro-inflammatory cytokine complex were found. This finding is contradictory to the previously held belief that the activation of TLR2 results in an increased release of IL-12 from monocytes [29]. This is confirmed by our own research, that showed that the concentration of IL-12p40 was not increased in patients with acne vulgaris.

Kang *et al.* [30] confirmed that it in their observations. They showed no significant differences in the level of IL-12p40 mRNA in the skin affected by the disease compared to the unaffected skin. The authors performed biopsies of 1-2 inflammatory lesions within the facial skin, and of unaffected adjacent area in 16 patients with acne vulgaris (4 men and 12 women). Significantly increased concentrations of TNF- α , IL-1 β , IL-8 and IL-10 mRNA were found in acne lesions. On the other hand, levels of IFN- γ , IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-12 (p35 and p40) and IL-15 mRNA were similar in the affected and unaffected skin.

In our own research it was proved that the concentration of CRP was higher in patients with acne vulgaris, especially in males, compared to the control group. Moreover, statistical analyses showed that the expression of this marker correlated significantly positively with the severity of skin lesions ($p = 0.0159$), but it was a weak correlation ($R_{\text{Spearman}} = 0.3501$) and it also negatively correlated with duration of the disease. The latter correlation was medium strong ($R_{\text{Spearman}} = -0.4361$).

Different results were presented by Namazi *et al.* [31] who determined CRP levels in 42 patients with moderate and severe acne and 44 control subjects. There was no statistically significant difference in both groups, as well as between people with moderate and severe acne. On the other hand, the authors found that the CRP level in patients with acne vulgaris was higher than in patients with rosacea due to more severe inflammation in the skin. However, in their opinion, acne vulgaris, even in these severe forms, with the exception of fulminant and concentrated acne, did not induce inflammation at the systemic level.

The same conclusion cannot be drawn from our own observations. The study conducted by us showed that the concentration of CRP in the serum of patients with acne vulgaris was the higher, the more severe the disease was. So why did Namazi *et al.* obtained dif-

jest znacznie podwyższone u chorych na trądzik. Przyczyną tego zjawiska jest stymulacja receptorów TLR2 przez *C. acnes*. Nie przedstawiono jednak istotnych różnic w sekrecji podjednostki p40 kompleksu cytokin prozapalnych IL-12/IL-23. Odkrycie to jest sprzeczne z wcześniejszymi przekonaniem, że na skutek aktywacji TLR2 dochodzi do zwiększonego uwalniania IL-12 z monocytów [29]. Potwierdzają to badania własne, które wykazały, że u pacjentów z trądzikiem pospolitym stężenie IL-12p40 nie jest podwyższone.

Kang i wsp. [30] także udowodnili to w swoich obserwacjach. Nie przedstawili istotnych różnic w oznaczeniu mRNA IL-12p40 w skórze zajętej przez proces chorobowy w porównaniu ze skórą niezmienną. Autorzy pobrali wycinek skóry twarzy z 1-2 zmian zapalnych oraz z obszaru sąsiadującego, wolnego od wykwitów chorobowych u 16 pacjentów z trądzikiem pospolitym (4 mężczyzn i 12 kobiet). W obrębie wykwitów w postaci trądziku wykazano znacznie podwyższone stężenie mRNA TNF- α , IL-1 β , IL-8 oraz IL-10. Stężenia mRNA IFN- γ , IL-1 α , IL-2, IL-4, IL-5, IL-12 (p35 i p40) oraz IL-15 były podobne w skórze zajętej i niezajętej procesem chorobowym.

W badaniach własnych udowodniono, że stężenie CRP jest wyższe u pacjentów z trądzikiem pospolitym, zwłaszcza u płci męskiej, w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto analizy statystyczne wykazały, że ekspresja tego markera koreluje istotnie dodatnio ze stopniem nasilenia zmian skórnych ($p = 0,0159$), ale jest to korelacja słaba ($R_{\text{Spearmana}} = 0,3501$), a także koreluje ujemnie z czasem trwania choroby, przy czym jest to korelacja średnia ($R_{\text{Spearmana}} = -0,4361$).

Odmienne wyniki przedstawili Namazi i wsp. [31], którzy oznaczali stężenia CRP u 42 pacjentów z umiarkowaną i ciężką postacią trądziku zwykłego i 44 osób w grupie kontrolnej. Nie zaobserwowano istotnej statystycznie różnicy w obu grupach, a także u osób z umiarkowaną i ciężką postacią trądziku. Autorzy stwierdzili jednak, że stężenie CRP u pacjentów z trądzikiem zwykłym jest wyższe niż u chorych z trądzikiem różowatym ze względu na bardziej nasilony stan zapalny w obrębie skóry. Jednak ich zdaniem trądzik pospolity nawet w ciężkich postaciach, z wyłączeniem trądziku piorunującego i skupionego, nie indukuje stanu zapalnego na poziomie systemowym.

Na podstawie obserwacji własnych nie można wysunąć tego samego wniosku. W badaniu przeprowadzonym przez autorów niniejszej pracy wykazano, że stężenie CRP w surowicy pacjentów z trądzikiem pospolitym jest tym wyższe, im cięższy jest przebieg schorzenia. Dlaczego więc Namazi i wsp. otrzymali inne wyniki? Być może analizy przedstawione w niniejszej pracy pozwolą odpowiedzieć na to pytanie. Autorki zaobserwowały, że stężenie CRP jest tym niższe, im dłuższy jest przebieg choroby. Można to

ferent results? Perhaps the analyses presented in this paper will help answer this question. The author has observed that the concentration of CRP was decreasing with increasing duration of the disease. This fact can be explained by the fact that acne vulgaris is a chronic disease, often lasting for many years. In turn, CRP is an acute phase protein, synthesized by liver cells. Scientific reports indicate [32] that many factors may influence its serum expression. Above all, the following should be mentioned: age, gender, body mass index, ethnic background. It is worth noting that women usually have higher CRP concentrations than men. The level depends on hormonal factors, such as the use of hormonal contraception or hormone replacement therapy. Moreover, the expression of this marker undergoes hormonal changes during the menstrual cycle, which should also be taken into account when interpreting test results.

It may be supposed that due to the greater severity of inflammation (higher CRP) at the beginning of the disease, the effectiveness of possibly introduced systemic antibiotics should be the highest.

Another study [20] analysed the correlation between the serum concentration of IL-8 and CRP in 68 people with IAV and 70 healthy volunteers. Their expression was shown to be significantly higher in the study group ($p < 0.05$). Moreover, attention was drawn to the fact that there was a statistically significant relationship between the concentration of the study parameters and the severity of skin lesions ($p < 0.05$) and the duration of the disease ($p < 0.05$). The authors concluded that IL-8 and CRP might play a key role in the development of inflammation in patients with IAV.

By measuring IL-12 and CRP in the serum of 27 patients with IAV and 27 healthy subjects it was proved that the concentration of IL-12 was increased in the study group [25]. On the other hand, CRP measured in both groups showed no statistically significant difference. Moreover, no relationship was found between serum CRP level and the severe course of this dermatosis ($p = 0.13$).

On the other hand, in this study, no elevated serum levels of IL-8 and IL-12p40 in patients with acne vulgaris were found. In our own material it was found that in the study group there was an increased concentration of IL-6, which in turn correlated with the severity of skin lesions, but not with duration of the disease. Similar observation was made for the CRP level, which was also elevated in this group of patients. A positive relationship between the serum CRP concentration in patients with severe acne and a negative correlation with its duration was presented.

CONCLUSIONS

We now know more about the aetiopathogenesis of acne vulgaris. It seems that the role of pro-inflam-

wy tłumaczyć faktem, że trądzik pospolity jest schorzeniem przewlekłym, niejednokrotnie trwającym wiele lat. CRP jest natomiast białkiem ostrej fazy, syntetyzowanym przez komórki wątroby. Doniesienia naukowe wskazują [32], że wiele czynników może mieć wpływ na jego ekspresję w surowicy. Należy wymienić przede wszystkim: wiek, płeć, wskaźnik masy ciała, pochodzenie etniczne. Na uwagę zasługuje fakt, że u kobiet zazwyczaj stężenie CRP jest wyższe niż u mężczyzn. Zależy to od czynników hormonalnych, takich jak stosowanie antykoncepcji hormonalnej lub hormonalnej terapii zastępczej. Ponadto ekspresja tego markera ulega zmianom podczas cyklu menstruacyjnego, co również powinno być uwzględnione przy interpretacji wyników badań.

Można by się pokusić o przypuszczenie, że w związku z większym nasileniem stanu zapalnego (wyższe CRP) na początku choroby skuteczność ewentualnie włączanych antybiotyków systemowych powinna być najwyższa.

W innym badaniu [20] przeanalizowano zależność między stężeniem IL-8 i CRP w surowicy 68 osób z IAV i 70 zdrowych ochotników. Wykazano, że ich ekspresja jest znacznie wyższa w grupie badanej ($p < 0,05$). Zwrócono także uwagę, że występuje statystycznie istotna zależność między stężeniem badanych parametrów a nasileniem zmian skórnych ($p < 0,05$) oraz czasem trwania procesu chorobowego ($p < 0,05$). Autorzy wysunęli wniosek, że IL-8 i CRP mogą odgrywać kluczową rolę w rozwoju stanu zapalnego u chorych z IAV.

Oznaczając IL-12 i CRP w surowicy 27 pacjentów z IAV i 27 zdrowych osób, udowodniono [25] podwyższone stężenie IL-12 w grupie badanej. W przypadku CRP nie wykazano istotnej statystycznie różnicy między grupami. Nie stwierdzono ponadto związku pomiędzy stężeniem CRP w surowicy a ciężkim przebiegiem tej choroby dermatologicznej ($p = 0,13$).

W niniejszej pracy nie wykazano podwyższonego stężenia IL-8 i IL-12p40 w surowicy pacjentów z trądzikiem pospolitym. W materiale własnym stwierdzono, że w grupie badanej występuje podwyższone stężenie IL-6, co z kolei koreluje z nasileniem zmian skórnych w przebiegu procesu chorobowego, ale nie z czasem jego trwania. Podobnie stężenie CRP, które również jest podwyższone w tej grupie chorych. Przedstawiono dodatnią zależność między stężeniem CRP w surowicy pacjentów a ciężkim przebiegiem trądziku oraz ujemną korelację z czasem jego trwania.

WNIOSKI

Obecnie wiadomo więcej na temat etiopatogenezy trądziku pospolitego. Wydaje się, że rola cytokin prozapalnych, stymulujących rozwój stanu zapalnego,

matory cytokines in stimulation of inflammation, playing a crucial role in the development of lesions, has been underestimated. The authors' own studies demonstrated that patients with acne vulgaris had elevated serum levels of IL-6 and CRP, and that IL-12p40 expression was decreased. Moreover, it was proved that there was a relationship between the IL-6 level and severity of the disease in this group of patients. This finding is clear evidence that IL-6, IL-12p40 and CRP play a role in this dermatosis. Unfortunately, it has not been possible to explain the mechanism of lesions and the sequence of individual events, so far. Is the increase in IL-6 concentration the factor initiating the development of lesions, which stimulates the development of the inflammatory reaction, which in turn causes an increase in the concentration of CRP? Or is the IL-12p40 deficiency a factor that triggers the formation of micro-comedones? If so, what is causing the decrease in IL-12p40 levels? The author observed that the expression of IL-12p40 was not related to the severity of skin lesions and duration of the disease. So why is the concentration of IL-12p40 decreased, especially in women? Unfortunately, these questions remain unanswered. But based on our own observations, continuation of research is a right decision. According to the authors, cytokines play a key role in the development of the inflammatory reaction, not only in its earliest stages, but also later on, when the disease transforms into the chronic one.

który ma kluczowe znaczenie w powstawaniu zmian chorobowych, była do tej pory niedoceniana. W badaniach własnych wykazano, że u chorych z trądzikiem pospolitym występuje podwyższone stężenie IL-6 i CRP w surowicy, a obniżona jest ekspresja IL-12p40. Ponadto udowodniono, że istnieje związek pomiędzy stężeniem IL-6 i nasileniem zmian skórnych w tej grupie chorych. Odkrycie to jest ewidentnym dowodem na to, że IL-6, IL-12p40 i CRP odgrywają rolę w tej chorobie. Niestety do tej pory nie udało się wyjaśnić, w jakim mechanizmie powstają wykwity chorobowe oraz jaka jest sekwencja poszczególnych zdarzeń. Czy czynnikiem inicjującym powstawanie zmian chorobowych jest wzrost stężenia IL-6, co stymuluje rozwój reakcji zapalnej i w następstwie wzrost stężenia CRP? Czy może jednak czynnikiem zapoczątkującym powstawanie mikrozaskórniaka jest niedobór IL-12p40? Jeśli tak, to co jest przyczyną obniżenia stężenia IL-12p40? Autorki zaobserwowały, że ekspresja IL-12p40 nie ma związku z nasileniem zmian skórnych i czasem trwania choroby. Dlaczego więc stężenie IL-12p40 jest zmniejszone, szczególnie u kobiet? Niestety pytania te nadal pozostają bez odpowiedzi. Z obserwacji własnych wynika jednak, że jest to właściwy kierunek badań, który powinien być kontynuowany. Zdaniem autorek cytokiny odgrywają kluczową rolę w rozwoju reakcji zapalnej, nie tylko w jej najwcześniejszych stadiach, lecz także w późniejszych etapach, kiedy schorzenie przechodzi w fazę przewlekłą.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

KONFLIKT INTERESÓW

Autorki nie zgłaszają konfliktu interesów.

References Piśmiennictwo

1. Bergler-Czop B.: The aetiopathogenesis of acne vulgaris – what's new? *Int J Cosmet Sci* 2014, 36, 187-194.
2. Zaenglein A.L., Pathy A.L., Schlosser B.J., Alikhan A., Baldwin H.E., Berson D.S., et al.: Guidelines of care for the management of acne vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 2016, 74, 945-973.
3. Plewig G.: Wie entsteht Acne vulgaris? *Hautarzt* 2010, 61, 99-106.
4. Drèno B., Layton A., Zouboulis C.C., Lopez-Esteban J.L., Zalewska-Janowska A., Bagatin E., et al.: Adult female acne: a new paradigm. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013, 27, 1063-1070.
5. Niyonsaba F., Kiatsurayanon C., Chieosilapatham P., Ogawa H.: Friends or foes? Host defense (antimicrobial) peptides and protein in human skin diseases. *Exp Dermatol* 2017, 26, 989-998.
6. Dowling J.K., Mansell A.: Toll-like receptors: the swiss army knife of immunity and vaccine development. *Clin Transl Immunology* 2016, 5, e85.
7. Cui J., Chen Y., Wang H.Y., Wang R.F.: Mechanisms and pathways of innate immune activation and regulation in health and cancer. *Hum Vaccin Immunother* 2014, 10, 3270-3285.
8. El Darouti M.A., Zeid O.A., Abdel Halim D.M., Hegazy R.A., Kadry D., Shebab D.I., et al.: Salty and spicy food: are they involved in the pathogenesis of acne vulgaris? A case controlled study. *J Cosmet Dermatol* 2016, 15, 145-149.
9. Das S., Reynolds R.V.: Recent advances in acne pathogenesis: implications for therapy. *Am J Clin Dermatol* 2014, 15, 479-488.
10. Melnik B.C.: Diet in acne: further evidence for the role of nutrient signalling in acne pathogenesis. *Acta Derm Venereol* 2012, 92, 228-231.
11. Rico M.J.: The role of inflammation in acne vulgaris. *Pract Dermatol* 2013, 8, 22-24.
12. Ramanathan S., Hebert A.A.: Management of acne vulgaris. *J Pediatr Health Care* 2011, 25, 332-337.
13. Lovászi M., Szegedi A., Zouboulis C.C., Törőcsik D.: Sebaceous-immunobiology is orchestrated by sebum lipids. *Dermatoendocrinology* 2017, 9, e1375636.

14. Lee W.J., Jung H.D., Chi S.G., Kim B.S., Lee S.J., Kim D.W., et al.: Effect of dihydrotestosterone on the upregulation of inflammatory cytokines in cultured sebocytes. *Arch Dermatol Res* 2010, 302, 429-433.
15. Lise M.L.Z., Baptista T.S.A., Petersen L.E., Bauer M.E., Ungarett C.A.L., Torres E., et al.: Subclinical atherogenesis in patients with mild psoriasis: a role for IL-6? *Rev Assoc Med Bras* 2017, 63, 747-752.
16. Saggini A., Chimenti S., Chiricozzi A.: IL-6 as a druggable target in psoriasis: focus on pustular variants. *J Immunol Res* 2014, 2014, 964069.
17. Salamon M., Sysa-Jędrzejowska A., Lukamowicz J., Lukamowicz M., Świątkowska E., Woźniacka A.: Stężenie wybranych cytokin prozapalnych w surowicy chorych na trądzik różowaty. *Przegl Lek* 2008, 65, 371-374.
18. Zhou B.R., Zhang J.A., Zhang Q., Permatasari F., Xu Y., Wu D., et al.: Palmitic acid induces production of proinflammatory cytokines interleukin-6, interleukin-1beta, and tumor necrosis factor-alpha via a NF-kappaB-dependent mechanism in HaCaT keratinocytes. *Mediators Inflamm* 2013, 2013, 530429.
19. Jiang W.G., Sanders A.J., Ruge F., Harding K.G.: Influence of interleukin-8 (IL-8) and IL-8 receptors on the migration of human keratinocytes, the role of PLC-gamma and potential clinical implications. *Exp Ther Med* 2012, 3, 231-236.
20. Mohammed R.H.E., Mohammed G.F., Abd-el-hamid A.S., Eyada M.M.K.: Correlation of IL-8 and C-reactive protein serum levels with the severity of inflammatory acne vulgaris: a comparative study. *ARC J Dermatol* 2016, 1, 10-15.
21. Sugisaki H., Yamanaka K., Kakeda M., Kitagawa H., Tanaka K., Watanabe K., et al.: Increased interferon-gamma, interleukin-12p40 and IL-8 production in Propionibacterium acnes-treated peripheral blood mononuclear cells from patient with acne vulgaris: host response but not bacterial species is the determinant factor of the disease. *J Dermatol Sci* 2009, 55, 47-52.
22. Zhong-Yong W., Kan L.L., Pan-pan Q.I.U., Hui-fen Q.I.U., Chun-mei S.H.U., Gao Y.: Expression of TLR2 in peripheral blood mononuclear cells and its correlation with interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in patient with acne vulgaris. *Chin J Dermatol* 2011, 44, 121-123.
23. Sahib A.S., Al-Anbari H.H., Raghif A.R.A.: Oxidative stress in acne vulgaris: an important therapeutic target. *J Mol Patophysiol* 2013, 2, 27-31.
24. Croxford A.L., Kulig P., Becher B.: IL-12 and IL-23 in health and disease. *Cytokine Growth Factor Rev* 2014, 25, 415-421.
25. Mohammed A.I.S., Abd El-Kaream Mohammed G.F., Younes S., Elakhras A.I.: Assessment of IL-12 serum level in patients with inflammatory acne vulgaris and its correlation with its severity. *J Turk Acad Dermatol* 2014, 8, 1482a1.
26. Palma R.A., Castrillón R.L., Padilla D.C., Martínez R.: Presence of IL-12, IL-2 and INF-gamma in inflammatory acne. *Dermatologia Rev Mex* 2006, 50, 197-200.
27. Anwar A.I., Massi M.N., Patellongi I.J., Dewiyanti W.: Levels of the proinflammatory cytokines: interleukin-8, interleukin-12, tumor necrosis factor-alpha in severe acne at Makassar. *Int J Biol Med Res* 2015, 6, 4718-4721.
28. Caillon F., O'Connell M., Eady E.A., Jenkis G.R., Cove J.H., Layton A.M., et al.: Interleukin-10 secretion from CD14+ peripheral blood mononuclear cells is downregulated in patients with acne vulgaris. *Br J Dermatol* 2010, 162, 296-303.
29. Ozlu E., Karadag A.S., Ozkanli S., Oguztuzun S., Kilic M., Zemheri E., et al.: Comparison of TLR-2, TLR-4, and antimicrobial peptide levels in different lesions of acne vulgaris. *Cutan Ocul Toxicol* 2016, 35, 300-309.
30. Kang S., Cho S., Chung J.H., Hammerberg C., Fisher G.J., Voorhees J.J.: Inflammation and extracellular matrix degradation mediated by activated transcription factors nuclear factor-kappaB and activator protein-1 in inflammatory acne lesions in vivo. *Am J Pathol* 2005, 166, 1691-1699.
31. Namazi M.R., Parhizkar A.R., Jowkar F.: Serum levels of hypersensitive C-reactive protein in moderate and severe acne. *Indian Dermatol Online J* 2015, 6, 253-257.
32. Sinikumpu S.P., Huilaja L., Auvinen J., Jokelainen J., Puukka K., Ruokonen A., et al.: The association between low grade systemic inflammation and skin diseases: a cross-sectional survey in the Northern Finland Birth Cohort 1966. *Acta Derm Venereol* 2018, 98, 65-69.

Received: 5.01.2020

Accepted: 9.06.2020

Otrzymano: 5.01.2020 r.

Zaakceptowano: 9.06.2020 r.

How to cite this article

Stańkowska A., Bergler-Czop B., Brzezińska-Wcisło L.: Interleukins-6, -8 and -12p40 and C-reactive protein levels in patients with acne vulgaris with various severity of skin changes. *Dermatol Rev/Przegl Dermatol* 2020, 107, 308-322.
DOI: <https://doi.org/10.5114/dr.2020.99876>.