

(52)

# Ocena stężenia interleukiny 8 w surowicy krwi u dzieci z zapaleniem błony naczyniowej

## *Concentration assessment of interleukin 8 in serum at children with uveitis*

Beata Żelazowska-Rutkowska<sup>1</sup>, Małgorzata Mrugacz<sup>2</sup>, Jolanta Wysocka<sup>1</sup>,  
Alina Bakunowicz-Łazarczyk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Z Zakładu Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatricznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. Jolanta Wysocka

<sup>2</sup> Z Kliniki Okulistyki Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Łazarczyk

### Summary:

**Purpose:** Uveitis in children is a visual threatening disease with a complication rate of more than 75%. At the children the uveitis differs in several aspect from adults like: clinical presentation or complication of disease. The etiology of uveitis is still unknown, but T lymphocytes are generally key mediators of the pathogenesis of uveitis.

In our study we evaluate IL-8 concentration in serum in uveitis patients.

**Material and methods:** Serum sample were collected from 28 uveitis patients and 20 people from control group. The level of IL-8 was measured with specific enzyme-linked immunoassays ELISA methods (R & D Systems).

**Results:** Level of IL-8 in uveitis group was a significant higher ( $p < 0.04$ ) compared with control group.

**Conclusions:** Increased levels of interleukin 8 in serum of children with uveitis may suggest innate immune mechanisms in the acute disease.

### Słowa kluczowe:

zapalenie błony naczyniowej, interleukina 8, patogenezą.

### Key words:

uveitis, interleukin 8, pathogenesis.

Zapalenie błony naczyniowej jest chorobą zapalną gałki ocznej charakteryzującą się nagromadzeniem leukocytów w obrębie tkanek oka (tęczówki, siatkówki czy naczyńki) (1). Przyczyną zapalenia błony naczyniowej mogą być zakażenia wywołane przez bakterie, wirusy czy grzyby, które wnikają do wnętrza gałki ocznej przez naczynia krwionośne lub w wyniku uszkodzeń rogówki (2). U osób z ogólnoustrojową chorobą zapalną może dojść do rozwoju zapalenia błony naczyniowej w wyniku procesów autoagresji z udziałem krążących kompleksów immunologicznych, jak to ma miejsce w przebiegu chorób Vogta-Koyanagi-Harady, Behçeta czy sarkoidozy (3,4). Od dawna uważa się, że w etiologii tego zapalenia istotną rolę odgrywa odpowiedź typu komórkowego z udziałem autoreaktywnych limfocytów T i cytokin wydzielanych przez mediatory zapalne (5,6).

Oznaczenie profilu poszczególnych cytokin mogłoby się przyczynić do wyjaśnienia etiologii zapalenia błony naczyniowej u dzieci.

IL-8 jest znaczącą chemokiną prozapalną, która stanowi patogenetyczną przyczynę licznych schorzeń zapalnych, które obejmują również gałkę oczną (7-9). Jest ona wydzielana przez monocyty, makrofagi, granulocyty, komórki NK (10). Działa chemotaktycznie w stosunku do neutrofilów, zwiększając ich gromadzenie się w ognisku zapalnym, jednocześnie pobudzając ich właściwości bakteriobójcze. Dane literaturowe wskazują, że stymulacja komórek nabłonka spojówki TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$  może

generować uwalnianie IL-8, co wpływa na rozwój procesów zapalnych poprzez rekrutację eozynofili na powierzchni oka (11).

### Cel

Celem pracy jest ocena stężenia interleukiny 8 w surowicy krwi dzieci chorych na zapalenie błony naczyniowej.

### Material i metody

Badaniami objęto 28 dzieci obojga płci w wieku 10-18 lat (średnia wieku 14 lat) hospitalizowanych w Klinice Okulistyki Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku z powodu zapalenia błony naczyniowej. Grupę kontrolną stanowiło 20 dzieci obojga płci w wieku 9-18 lat, średnia wieku 13 lat.

W celu oznaczenia interleukiny 8 od każdego pacjenta pobierano 2 ml krwi, krew odwirowywano, a następnie surowicę krwi zamrażano w temperaturze  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Stężenie IL-8 określono metodą ELISA za pomocą zestawu firmy R & D System, Minneapolis USA. Do studzienek, których ścianki były optaszczone monoklonalnymi przeciwciałami specyficznymi dla IL-8, były pipetowane próby badane i próbki standardowe, a zawarta w nich chemokina była wiązana przez przeciwciała monoklonalne. Nadmiar niezwiązanej IL-8 był usuwany poprzez kilkukrotne płukanie, po czym do studzienek reakcyjnych dodawano monoklonalne przeciwciało. Następnie aplikowano roztwór peroksydazy chrzanowej skoniugowanej ze streptowi-

dyną. Całość inkubowano w temperaturze pokojowej. Reakcję przerywano poprzez dodanie 1M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> do każdej ze studzienek. W efekcie powstał produkt reakcji barwnej wprost proporcjonalny do ilości zwianej IL-8. Intensywność zabarwienia mierzono fotometrycznie w czytniku Anthos, gdy fala miała długość 450 nm. Wyniki obliczano na podstawie krzywej logarytmicznej i podawano w jednostkach pg/ml. Czulość testu wynosiła 3,5 pg/ml.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono testem nieparametrycznym U Manna-Whitneya za pomocą programu STATISTICA 6 8.0. Wyniki podawano w średnich wartościach odsetkowych ± wartość odchylenia standardowego. Za istotną statystycznie przyjęto wartość, gdy  $p \leq 0,05$ .

## Wyniki

Stężenie IL-8 u osób w grupie badanej wynosiło 15,04 ± 12,55 pg/ml, w grupie kontrolnej zaś – 6,49 ± 1,98 pg/ml (tab. I).

	Pacjenci z zapaleniem błony naczyniowej oka/ Uveitis patients N = 28	Grupa kontrola/ Control group N = 20
Stężenie IL-8 (średnia ± SD)/ Level of IL-8 (mean ± SD)	15,04 ± 12,55*	6,49 ± 1,98*

\*Analiza statystyczna/ Statistical analysis:  $p < 0,04$

**Tab. I.** Stężenie IL-8 w surowicy krwi pacjentów z zapaleniem błony naczyniowej oka i u osób w grupie kontrolnej.

**Tab. I.** Level of IL-8 in serum in uveitis patients and patients in control group.

Wykazano różnicę istotną statystycznie,  $p < 0,04$ , między stężeniem IL-8 w surowicy krwi dzieci chorych na zapalenie błony naczyniowej a stężeniem IL-8 w surowicy krwi dzieci w grupie kontrolnej.

## Dyskusja

Interleukina 8 ma znaczenie w etiologii zapaleń w obrębie gałki ocznej. Stwierdzono jej obecność w ciele szklistym u osób chorych na zapalenie błony naczyniowej. W badaniach tych dowiedziano, że IL-8 wywołuje destrukcję tkanek gałki ocznej w wyniku nagromadzenia się granulocytów oraz ich degranulacji (12). Podwyższony poziom IL-8 ma związek z zapaleniem części błony naczyniowej – przedniej i pośredniej – częściej jednak występuje u pacjentów z towarzyszącymi chorobami układowymi (13).

Ekspresję IL-8 stwierdzono również u pacjentów z zespołem Behçeta. Cytokina ta może służyć jako wczesny marker tej choroby (14).

W naszych badaniach stwierdziliśmy istotnie statystycznie wyższy poziom IL-8 w surowicy krwi pacjentów z zapaleniem błony naczyniowej, w porównaniu z poziomem IL-8 w surowicy krwi osób w grupie kontrolnej.

Podobne wyniki prezentowali Karen i wsp., którzy stwierdzili wyższą wartość IL-8 u pacjentów z aktywną postacią zapalenia błony naczyniowej niż u pacjentów z fazą remisji (15). Może to wskazywać, że cytokina ta jest zdolna wyzwać aktywną formę tej choroby.

W badaniach Kramera i wsp. odnotowano wyższy poziom IL-8 w surowicy krwi i płynie komory przedniej pacjentów z aktywną postacią zapalenia części przedniej błony naczyniowej. Może to sugerować, że w aktywnej postaci zapalenia następuje przerwanie bariery krew-siatkówka i przemieszczanie się cyto-kin do surowicy (16).

Procesy zachodzące w komórkach tworzących barierę krew-siatkówka oraz limfocyty podlegają działaniu cytokin. Wzrastający poziom cytokin, zwłaszcza IL-8, może prowadzić do rekrutacji komórek zapalnych, które mogą nasilać przeciek z naczyń siatkówki i wzmacniać stan zapalny. Cytokiny te prawdopodobnie podwyższają adhezję krążących limfocytów do komórek śródbłoka i tym samym mogą odgrywać istotną rolę w prze-rwaniu bariery krew-siatkówka (17).

## Wnioski

1. Znamienne statystyczny wzrost IL-8 w surowicy krwi pacjentów z zapaleniem błony naczyniowej może sugerować jej udział w etiologii tego schorzenia.
2. Rutynowe oznaczanie poziomu IL-8 może być wykorzystane jako wczesny marker zapalenia błony naczyniowej.

## Piśmiennictwo:

1. Mueller JB, McStay CM: *Ocular infection and inflammation*. Emerg Med Clin North Am 2008, 26, 57-72.
2. Markomichelakis NN, Chatzistefanou KI, Papaefthymiou I, Koutsandrea C, Kouris T, Apostolopoulos M: *Infectious uveitis in children*. Ophthalmology 2009, 116, 1588, 1588. e1-2.
3. Damico FM, Bezerra FT, da Silva GC, Gasparin F, Yamamoto JH: *New insights into Vogt-Koyanagi-Harada disease*. Arq Bras Oftalmol 2009, 72, 413-420.
4. Citirik M, Berker N, Songur MS, Soykan E, Zilelioglu O: *Ocular findings in childhood-onset Behçet disease*. J AAPOS 2009, 13, 391-395.
5. Takase H, Futagami Y, Yoshida T, Kamoi K, Sugita S, Imai Y, Mochizuki M: *Cytokine profile in aqueous humor and sera of patients with infectious or noninfectious uveitis*. Invest Ophthalmol Vis Sci 2006, 47, 1557-1561.
6. Ooi KG, Galatowicz G, Calder VL, Lightman SL: *Cytokines and chemokines in uveitis: is there a correlation with clinical phenotype?* Clin Med Res 2006, 4, 294-309.
7. Żywalewska-Górna N, Mrugacz M, Bakunowicz-Łazarczyk A: *Ocena roli wybranych cytokin w indukowaniu zmian ocznych w przebiegu zespołu suchego oka związanego z zespołem Sjögrena*. Klin Oczna 2007, 107, 10-12.
8. Malesiński R, Mrugacz M, Bakunowicz-Łazarczyk A: *Rola chemokin w schorzeniach narządu wzroku. Część I. Budowa i znaczenie chemokin w wybranych jednostkach chorobowych*. Klin Oczna 2007, 109, 7-9.
9. Mrugacz M, Kaczmarski M, Bakunowicz-Łazarczyk A, Żelazowska B, Wysocka J, Minarowska A: *IL-8 and IFN-gamma in tear fluid of patients with cystic fibrosis*. J Interferon Cytokine Res 2006, 26, 71-75.
10. Węglarz L, Wawszczyk J: *Funkcja biologiczna i patofizjologiczna rola interleukiny 8*. Ann Acad Med Siles 2006, 60, 138-150.
11. Smit EE, Sra SK, Grabowski LR, Ward SL, Trocme SD: *Modulation of IL-8 and RANTES release in human conjunctival epithelial*

- cells: primary cells and cell line compared and contrasted. *Cornea* 2003, 22, 332-337.
12. de Boer JH, Hack CE, Verhoeven AJ, Baarsma GS, de Jong PT, Rademakers AJ, de Vries-Knoppert WA, Rothova A, Kijlstra A: *Chemoattractant and neutrophil degranulation activities related to interleukin-8 in vitreous fluid in uveitis and vitreoretinal disorders*. *Incest Ophthalmol Vis Sci* 1993, 34, 3376-3385.
13. Klok AM, Luyendijk L, Zaal MJ, Rothova A, Hack CE, Kijlstra A: *Elevated serum IL-8 levels are associated with disease activity in idiopathic intermediate uveitis*. *Br J Ophthalmol* 1998, 82, 871-874.
14. Gür-Toy G, Lenk N, Yalcin B, Aksaray S, Alli N: *Serum interleukin-8 as a serologic marker of activity in Behçet's disease*. *Int J Dermatol* 2005, 44, 657-660.
15. Sijssens KM, Rijkers GT, Rothova A, Stilma JS, Schellekens PA, de Boer JH: *Cytokines, chemokines and soluble adhesion molecules in aqueous humor of children with uveitis*. *Exp Eye Res* 2007, 85, 443-449.
16. Kramer M, Monselise Y, Bahar I, Cohen Y, Weinberger D, Goldenberg-Cohen N: *Serum cytokine levels in active uveitis and remission*. *Curr Eye Res* 2007, 32, 669-675.
17. Rusiecka-Ziółkowska J: *Znaczenie i przebieg odpowiedzi komórkowej w zapaleniach błony naczyniowej oka*. *Przegl Lek* 2002, 59, 113-114.

Praca wpłynęła do Redakcji 30.04.2010 r. (1220)  
Zakwalifikowano do druku 04.10.2010 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
dr n. med. Beata Żelazowska-Rutkowska  
Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatrycznej UM  
ul. Waszyngtona 17  
15-269 Białystok  
zelazowskab@wp.pl

## Katedra i Klinika Okulistyki I Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

oraz

### Sekcja Okulistyczna

### Polskiego Towarzystwa Ultrasonograficznego

zapraszają do udziału w konferencji



## METODY OBRAZOWANIA W OKULISTYCE



która odbędzie się w Warszawie w dniach 1-2 kwietnia 2011 r.

Szczegółowe informacje na stronie [www.okulistyka2011.pl](http://www.okulistyka2011.pl)