

(40)

# Stężenie interleukiny-8 w płynie łzowym u pacjentów z mukowiscydozą

## *Concentration of interleukine-8 in tears in patients with cystic fibrosis*

Małgorzata Mrugacz<sup>1</sup>, Beata Żelazowska<sup>2</sup>, Alina Bakunowicz-Łazarczyk<sup>1</sup>,  
Alina Minarowska<sup>3</sup>, Jolanta Wysocka<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Z Kliniki Okulistyki Dziecięcej Akademii Medycznej w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Łazarczyk

<sup>2</sup> Z Zakładu Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatrycznej Akademii Medycznej w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jolanta Wysocka

<sup>3</sup> Z III Kliniki Chorób Dzieci Akademii Medycznej w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maciej Kaczmarski

**Summary:** Purpose: To evaluate IL-8 concentration in tears fluid in cystic fibrosis patients.  
Material and methods: Tears samples were collected from 18 CF Patients and 18 normal controls. Cytokine level was determined by ELISA.  
Results: A significant increase of IL-8 concentration in tears fluid was found in CF patients compared with controls.  
Conclusions: Increase IL-8 concentration in tears fluid in CF patients suggests a role of immunologic processes in the pathogenesis of the ocular changes, and may be a marker of the inflammatory status in ocular surface in cystic fibrosis.

**Słowa kluczowe:** mukowiscydoza, ły, interleukina-8.  
**Key words:** cystic fibrosis, tears, interleukin-8.

Patogeneza zmian ocznych w mukowiscydozie jest nadal nieznaną, aczkolwiek wiadomo, że schorzenie to należy do dużej grupy patologii związanych z zespołem suchego oka (1). W ostatnich latach zwrócono uwagę na udział procesów immunologicznych w zespole suchego oka. Istotną rolę przypisuje się cytokinom, które wpływają na regulację równowagi pro- i przeciwzapalnej (2,3).

Interleukina (IL)-8 stanowi potencjalny chemoatraktant dla neutrofilii, odgrywając kluczową rolę w schorzeniach zapalnych. Jest wytwarzana przez monocyty, makrofagi, komórki śródbłonna stymulowane lipopolisacharydami, fibroblasty, komórki nabłonka i maziówki oraz komórki mezotelialne (4).

**Celem pracy** jest ocena stężenia IL-8 w płynie łzowym pacjentów z mukowiscydozą.

### Material i metody

Badania przeprowadzono u 18 pacjentów z mukowiscydozą, w tym u 10 chłopców i 8 dziewczynek, objętych opieką III Kliniki Chorób Dzieci, w wieku od 8 do 22 lat (średnia wieku  $14,65 \pm 3,72$  roku). Badania w grupie kontrolnej wykonano u 18 zdrowych osób (9 chłopców i 9 dziewczynek) w wieku od 9 do 23 lat (średnia wieku  $15,02 \pm 3,21$  roku). W trakcie badań u 4 pacjentów stosowano antybiotykoterapię doustną, u wszystkich zaś suplementację witaminy A. Badania dotyczyły pacjentów, których rodzice/ opiekunowie wyrazili zgodę na udział w badaniach.

W celu oznaczenia stężenia IL-8 płyn łzowy pobierano za pomocą szklanych kapilar, które umiejscawiano w kącie zewnętrznym szpary powiekowej. Łzy pobierano z obojga oczu w ciągu 5-15 minut, a następnie mieszano. Po uzyskaniu objętości od 50 do 100  $\mu$ l próbki natychmiast zamrażano w temperaturze  $-70^{\circ}$  C

w celu dalszej analizy metodą ELISA za pomocą odpowiednich zestawów (Quantikine HS, R & D system, Minneapolis, USA).

Analizy statystycznej dokonano za pomocą nieparametrycznego testu Wilcoxon. Poziom  $p < 0,05$  przyjęto jako statystycznie znamienne.

### Wyniki

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że stężenie IL-8 w płynie łzowym u pacjentów z mukowiscydozą wynosiło średnio  $988,81 \pm 321,11$  pg/mL i  $252,18 \pm 48,20$  pg/mL w grupie kontrolnej (tab. I). Stężenie IL-8 w łzach u pacjentów z mukowiscydozą było znamienne statystycznie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną.

Liczba badanych Number of patients	Stężenie IL-8 (średnia $\pm$ SD) Level of IL-8 (mean $\pm$ SD)
pacjenci z CF N=18 CF patients N=18	$988,91 \pm 321,11$
grupa kontrolna N=18 Control group N=18	$252,18 \pm 48,20$

**Tab. I.** Stężenie IL-8 w płynie łzowym pacjentów z CF i w grupie kontrolnej (pg/mL).

**Tab. I.** Level of IL-8 in tear fluid in CF patients and controls (pg/mL).

### Omówienie

Najnowsze badania dotyczące mukowiscydozy potwierdzają udział reakcji immunologicznych w patogenezie tego schorzenia. Główną rolę w tych procesach odgrywają cytokiny, które mają

wpływ na rozwój zapalenia poprzez regulację funkcji komórek immunologicznych (5,6). Mają również wpływ na ekspresję prekursorów i mediatorów zapalenia przez komórki określonego miejsca w ustroju, co jest niezwykle ważne w lokalnej regulacji zapalenia (7).

IL-8 jest znaczącą cytokiną prozapalną, która stanowi patogenetyczną przyczynę licznych schorzeń zapalnych, obejmujących również gałkę oczną (3,8,9,10,11,12). Wpływa na rozwój zmian zapalnych stawów, przewodów pokarmowego, dróg oddychowych (10,13,14). Jest również uwalniana w surowicy krwi w mukowiscydozie, sepsie, infekcjach i w astmie (5,14,15,16).

Badania eksperymentalne Smitha i wsp. wykazały, że stymulacja ludzkich komórek nabłonka spojówki mediatorami pozapalnymi, takimi jak TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$ , może generować uwalnianie IL-8, co wpływa na rozwój procesów zapalnych poprzez rekrutację eozynofili do powierzchni oka (17). Ekspresję IL-8 stwierdzono we łzach pacjentów z zespołem Sjögrena, noszących szkła kontaktowe, w przebiegu zapalenia błony naczyniowej, w granulocytach enukleowanej gałki ocznej u pacjenta z chorobą Behçeta powikłaną zapaleniem wnętrza gałki ocznej oraz w komórkach nabłonka spojówki pacjentów z ciężkimi schorzeniami alergicznymi spojówki i rogówki (3,7,8,12,18). W badaniach doświadczalnych zaobserwowano ekspresję genu IL-8 przez komórki nabłonka barwnikowego siatkówki po stymulacji IL-1 beta (19). Badania stężenia IL-8 w surowicy krwi, płynie łzowym, płynie podsiatkówkowym i cieple szklistym wykazały udział IL-8 w rozwoju retinopatii proliferacyjnej u pacjentów z cukrzycą insulinozależną (20).

W naszej pracy stwierdziliśmy ponadtrzykrotny wzrost stężenia IL-8 w płynie łzowym u pacjentów z mukowiscydozą. Tak wysokie poziomy IL-8 sugerują, że IL-8 może być produkowana lokalnie i może stanowić marker stanu zapalnego w tej chorobie.

### Wnioski

- Znaczący wzrost stężenia IL-8 w płynie łzowym pacjentów z CF sugeruje udział procesów immunologicznych w patogenezie powstawania zmian ocznych w przebiegu tego schorzenia.
- Ocena stężenia IL-8 w płynie łzowym może stanowić marker stanu zapalnego powierzchni oka w mukowiscydozie.

### PIŚMIENNICTWO:

1. Castagna I., Roszkowska A.M., Fama F., Sinicropi S., Ferreri G.: *The eye in cystic fibrosis*. Eur. J. Ophthalmol., 2001, 11, 9-14.
2. Jones D., Monroy D., Atherton S., Pflugfelder S.: *Sjögren's syndrome: cytokine and Epstein-Barr viral gene expression within the conjunctival epithelium*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1994, 35, 1493-1504.
3. Pflugfelder S.C., Jones D., Ji Z., Afonso A., Monroy D.: *Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca*. Cur. Eye Res., 1999, 19, 201-211.
4. Herbert C.A., Baker J.B.: *Interleukin-8: a review*. Cancer Invest., 1993, 11, 743-750.
5. Berger M.: *Inflammatory mediators in cystic fibrosis lung disease*. Allergy Asthma Proc., 2002, 23, 19-25.
6. Muhlebach M.S., Noath T.L.: *Endotoxin activity and inflammatory markers in the airways of young patients with cystic fibrosis*. Am. J. Respir. Care Med., 2002, 165, 911-915.
7. Thakur A., Willcox D.P.: *Cytokine and lipid inflammatory mediator profile of human tears during contact lens associated inflammatory diseases*. Exp. Eye Res., 1998, 67, 9-19.

8. Brito B.E., O'Rourke L.M., Pan Y.: *Murine endotoxin-induced uveitis, but not immune complex-induced uveitis, is dependent on the IL-8 receptor homolog*. Curr. Eye Res., 1999, 19, 76-85.
9. Gern J.E., Martin S.E., Anclam K.A.: *Relationships among specific viral pathogens, virus-induced interleukin-8, and respiratory symptoms in infancy*. Pediatr. Allergy Immunol., 2002, 13, 386-393.
10. Peichl P., Cheska M., Effenberger F.: *Presence of NAP-1/IL-8 in synovial fluids indicates a possible pathogenic role in rheumatoid arthritis*. Scand. J. Immunol., 1991, 34, 333-339.
11. Reato G., Cuffini A.M., Tullio V., Mandras n., Roana J., Banche G., Foa R., Carlone N.A.: *Immunomodulating effect of antimicrobial agents on cytokine production by human polymorphonuclear neutrophils*. J. Antimicrob. Agents, 2004, 23, 150-154.
12. Sakamoto H., Sakamoto T., Kubota T., Duan H., Koga T., Furue M., Ishibashi T.: *Interleukin-8 expressed in the granulocytes of the eye in a patient with Behçet's disease complicated by lens-induced endophthalmitis*. Jpn. J. Ophthalmol., 2003, 47, 548-550.
13. Vaisman N., Leibovitz E., Dagan R., Barak V.: *The involvement of IL-6 and IL-8 in acute invasive gastroenteritis of children*. Cytokine, 2003, 22, 194-197.
14. Rodgers H.C., Pang L., Holland E., Corbett L., Range S., Knox A.J.: *Bradykinin increases IL-8 generation in airway epithelial cells via COX-2-derived prostanoids*. Am. J. Physiol. Lung. Cell., 2002, 283, 612-618.
15. Barak V., Schwartz A., Kalickman I., Nisman B., Gurman G., Shoenfeld Y.: *Prevalence of hypophosphatemia in sepsis and infection: the role of cytokines*. Am. J. Med., 1998, 104, 40-47.
16. Marini M., Vittori E., Hollemberg J., Mattoli S.: *Expression of potent inflammatory cytokines, granulocyte-macrophage-colony-stimulating-factor and interleukin-6 and interleukin-8 in bronchial epithelial cells of patients with asthma*. J. Allergy Clin. Immunol., 1992, 89, 1001-1009.
17. Smith E.E., Sra S.K., Grabowski L.R., Ward S.L., Trocme S.D.: *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.
18. Miyoshi T., Fukagawa K., Shimmura S., Fujishima H., Takano Y., Takamura E., Tsubota K., Saito H., Oguchi Y.: *Interleukin-8 concentrations in conjunctival epithelium brush cytology samples correlate with neutrophil, eosinophil infiltration, and corneal damage*. Cornea, 2001, 20, 743-747.
19. Elnor V.M., Strieter R.M., Elnor S.G., Baggiolini M., Lindley I., Kunkel S.L.: *Neutrophil chemotactic factor (IL-8) gene expression by cytokine-treated retinal pigment epithelial cells*. Am. J. Pathol., 1990, 136, 745-750.
20. Slepova O.S., Gerasimenko V.L., Zakharova G., Novikova-Bilak T.: *Comparative study of the role of cytokines in various eye diseases*. Vestn. Oftalmol., 2001, 117, 35-37.

Praca naukowa finansowana ze środków Komitetu Badań Naukowych w latach 2003-2006 jako projekt badawczy (nr 3 P05E 047 25).

Praca wpłynęła do Redakcji 14.10.2005 r. (819).  
Zakwalifikowano do druku 24.04.2006 r.

**Adres do korespondencji (Reprint requests to):**  
dr n. med. Małgorzata Mrugacz  
Klinika Okulistyki Dziecięcej  
ul. Waszyngtona 17  
15-274 Białystok