

(38)

Ocena ekspresji międzykomórkowej cząsteczki adhezyjnej-1 na komórkach nabłonka spojówki w przebiegu mukowiscydozy u dzieci i młodzieży

The evaluation of the expression of intercellular adhesion molecule (ICAM-1) by conjunctival epithelial cells of patients with cystic fibrosis

Małgorzata Mrugacz¹, Janusz Żak², Alina Bakunowicz-Łazarczyk¹,
Jolanta Wysocka², Alina Minarowska³, Karol Radomski²

¹ Z Kliniki Okulistyki Dziecięcej Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Łazarczyk

² Z Zakładu Pediatricznej Diagnostyki Laboratoryjnej Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jolanta Wysocka

³ Z III Kliniki Chorób Dzieci Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maciej Kaczmarski

Summary:

Purpose: To investigate the expression of intercellular adhesion molecule (ICAM-1) by conjunctival epithelial cells of patients with cystic fibrosis.

Material and Methods: 15 patients with cystic fibrosis and 15 control subjects were included in this study. Impression cytology specimens were collected and analyzed by flow cytometry and analyzed by flow cytometry.

Results: A significant increase of ICAM-1 expression by epithelial cells was found in patients with cystic fibrosis compared with normal eyes.

Conclusions: Increase of ICAM-1 expression by epithelial cells in cystic fibrosis patients suggests, that the inflammation appears to have a role in the pathogenesis of the ocular surface changes and may be a marker of the inflammatory status in cystic fibrosis.

Słowa kluczowe: ICAM-1, mukowiscydoza, cytologia impresyjna, cytometria przepływowa.

Key words: ICAM-1, cystic fibrosis, impression cytology, flow cytometry.

Patogeneza zmian ocznych w mukowiscydozie jest nadal nieznaną, aczkolwiek wiadomo, że schorzenie to należy do dużej grupy patologii związanych z zespołem suchego oka. W ostatnich latach zwrócono uwagę na udział procesów immunologicznych w zespole suchego oka. Uczestniczy w nich zwłaszcza międzykomórkowa cząsteczka adhezyjna ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1) (1,2). ICAM-1 jest cząsteczką adhezyjną obecną na komórkach śródbłonka, nabłonka, leukocytach, monocytach i makrofagach (3). Odgrywa ona kluczową rolę w procesach zapalnych (4).

Celem pracy jest ocena ekspresji ICAM-1 na komórkach nabłonka spojówki u pacjentów z mukowiscydozą.

Material i metody

Badania wykonano u 15 pacjentów z mukowiscydozą, w tym u 10 chłopców i 5 dziewczynek, będących pod opieką III Kliniki Chorób Dzieci. Ich wiek wahał się w granicach od 7 do 20 lat (średnio $14,32 \pm 3,91$ roku). Badania w grupie porównawczej przeprowadzono u 9 chłopców i 6 dziewczynek w wieku od 8 do 21 lat (średnia wieku $13,92 \pm 3,32$ roku). W trakcie badań 2 pacjentów z mukowiscydozą przyjmowało antybiotyk doustnie, u wszystkich zaś stosowano suplementację witaminy A.

By uzyskać do badań komórki nabłonka spojówki, zastosowano metodę cytologii impresyjnej, co pozwoliło uniknąć jednocześnie inwazyjnego pobierania wycinków spojówki. Metoda ta polega na przyłożeniu do spojówki filtra miliporowego, dociśnięciu go, a następnie oderwaniu wraz z przyklejonymi komórkami zewnętrznej warstwy nabłonka. Z każdego oka, po znieczuleniu miejscowym (1% Alkaina), pobierano 2 preparaty w odległości kilku milimetrów od rąbka rogówki w kwadrancie górnym i górnoskroniowym spojówki gałkowej. Do badania zastosowano filtry polieterosulfonowe (Gelman Sciences) o wielkości porów $0,20 \mu\text{m}$, w krążkach o średnicy 25 mm, które pocięto na trójkąty o wymiarach $10 \times 5 \times 10$ mm. Filtr taki przykładano za pomocą pęsetki do spojówki, a następnie odrywano. Tak przygotowany materiał poddano analizie w cytometrze przepływowym EPICS XL (Coulter) za pomocą zestawów firmy DACO.

Analizy statystycznej dokonano za pomocą testu t-Studenta. Za poziom istotności przyjęto wartość $p < 0,05$.

Wyniki

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że u pacjentów z mukowiscydozą, w przeciwieństwie do pacjentów z grupy porównawczej, występowała zwiększona ekspresja

cząsteczki adhezyjnej ICAM-1. Średnia wartość odsetka komórek pozytywnych w grupie chorych wynosiła $17,88 \pm 8,87\%$, a w grupie porównawczej $5,91 \pm 2,54\%$. Stwierdzono różnice znamienne statystycznie między wartością ICAM-1 u pacjentów z mukowiscydozą a wartością ICAM-1 w grupie porównawczej.

Omówienie

W naszej pracy stwierdziliśmy wzrost poziomu ekspresji ICAM-1 na komórkach nabłonka spojówki u pacjentów z mukowiscydozą.

ICAM-1 należy do cząsteczek mających duże znaczenie w komunikowaniu między limfocytami a innymi komórkami, na przykład komórkami nabłonka, oraz kontrolowaniu lokalnej rekrutacji i migracji leukocytów w procesie zapalnym (5,6). Badania Zhana i wsp. wskazują, że komórki nabłonka spojówki odgrywają rolę prozapalną poprzez zdolność do ekspresji cząsteczek adhezyjnych, takich jak CD80, CD86, CD40 i ICAM-1 (7). Do zwiększonej ekspresji ICAM-1 dochodzi w schorzeniach alergicznych narządu wzroku, trądziku różowatym oraz w zespole suchego oka (2,8,9). Zwiększona ekspresja tej cząsteczki może być spowodowana uwalnianiem jednej lub wielu cytokin prozapalnych, w szczególności interferonu-gamma i interleukiny-8, co inicjuje kaskadę zapalną (5,10). Interesujący jest fakt, że ekspresja ICAM-1 jest kontrolowana przez składniki płynu łzowego, takie jak epidermalny czynnik wzrostu i hepatocytarny czynnik wzrostu. Odgrywają one istotną rolę w procesach różnicowania i proliferacji komórek nabłonka, a ich brak może mieć wpływ na powstawanie objawów suchego oka (11).

Reasumując, należy podkreślić, że nasze badania wskazują na istotny wpływ ICAM-1 na powstawanie ocznych zmian zapalnych w przebiegu mukowiscydozy, co może otwierać nowe perspektywy związane z diagnostyką i efektywnym leczeniem.

Wnioski

Wzrost ekspresji ICAM-1 na komórkach nabłonka spojówki u pacjentów z mukowiscydozą sugeruje udział procesów immunologicznych w patogenezie powstawania zmian ocznych w przebiegu mukowiscydozy.

Monitorowanie lokalnej ekspresji ICAM-1 może okazać się badaniem przydatnym w ocenie rozwoju zmian ocznych i stanowić marker stanu zapalnego w tej jednostce chorobowej.

PIŚMIENNICTWO:

1. Stern M.E., Gao J., Schwalb T.A., Ngo M., Tieu D.D., Chan C.C., Reis B.L., Whitcup S.M., Thompson D., Smith J.A.: *Conjunctival T-cell subpopulations in Sjögren's and non-Sjögren's patients with dry eye*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2002, 43, 2609-2614.
2. Tsubota K., Fujihara T., Saito K., Takeuchi T.: *Conjunctival epithelium expression of HLA-DR in dry eye patients*. Ophthalmologica, 1999, 213, 16-19.
3. Tanaka Y.: *Adhesion molecules: relevance to basic and clinical research*. J UOEH, 2001, 23, 421-429.
4. Imhoff B.A., Dunon D.: *Basic mechanism of leukocyte migration*. Horm. Metab. Res., 1997, 614-621.
5. De Saint Jean M., Brignole F., Feldman G.: *Interferon-gamma induces apoptosis and expression of inflammation-related proteins in Chang conjunctival cells*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1999, 40, 199-212.
6. Hamrach P.: *Novel characterisation of MHC class II-negative population of resident corneal Langerhans cells*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2002, 29, 103-109.
7. Zhan H., Towler H.M.A.T., Calder V.L.: *The immunomodulatory role of human conjunctival epithelial cells*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2003, 44, 3906-3910.
8. Gao J., Morgan G., Tieu D., Schwalb T.A., Luo J.Y., Wheeler L.A., Stern M.E.: *ICAM-1 expression predisposes ocular tissue to immune-based inflammation in dry eye patients and Sjogrens syndrome-like MRL/lpr mice*. Exp. Eye Res., 2004, 78, 823-835.
9. Pisella P.J., Brignole F., Debbasch C., Pharm D., Lozato P.A., Creuzot-Garcher C., Bara J., Saiag P.H., Warnet J.M., Baudouin Ch.: *Flow cytometric analysis of conjunctival epithelium in ocular rosacea and keratoconjunctivitis sicca*. Ophthalmology, 2000, 107, 1841-1849.
10. Rosette C., Karin M.: *Ultraviolet light and osmotic stress—activation of the JNK cascade through multiple growth factor and cytokine receptors*. Ophthalmol. Vis. Sci., 2003, 44, Abstract 1026.
11. Van Setten G., Schultz G.: *Transforming growth factor-alpha is a constant component of human tear fluid*. Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 1994, 232, 523-526.

Praca wpłynęła do Redakcji 8.09.2005 r. (787).
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