

Ocena stężenia w moczu i przydatności diagnostycznej interleukiny-8 i interleukiny-18 w diagnostyce raka pęcherza – doniesienie wstępne

The evaluation of urine concentration and diagnostic usefulness of interleukin-8 and interleukin-18 in bladder cancer diagnostics – preliminary report

Zofia Marchewka, Beata Szymańska, Agnieszka Piwowar

Katedra i Zakład Toksykologii Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, Pracownia Markerów Uszkodzenia Dróg Moczowych

Streszczenie

Wstęp. Udział cytokin w rozwoju stanu zapalnego jest dobrze udokumentowany, natomiast od niedawna zwraca się uwagę na ich rolę w patogenezie procesu nowotworowego. Cytokiny wykazują bardzo różnorodne, często odmienne działania na progresję nowotworu. Celem badań była próba określenia czy oznaczanie stężeń dwóch interleukin: IL-8 i IL-18 w moczu może być pomocne w diagnostyce raka pęcherza.

Materiał i metody. Materiałem do badań był mocz poranny oraz surowica pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem pęcherza moczowego, zweryfikowanych histopatologicznie z określeniem stopnia zaawansowania według klasyfikacji TNM (Tumor Nodules Metastases) i stopnia złośliwości według WHO (World Health Organization). Stężenia interleukin w moczu oznaczono metodą immunoenzymatyczną, testem ELISA (firmy Diaclone, R&D Systems).

Wyniki. U chorych na raka pęcherza moczowego, stwierdzono istotnie wyższe średnie stężenia obydwu interleukin oraz białka całkowitego w moczu. Stężenie białka C-reaktywnego w surowicy nie było istotnie statystycznie wyższe od wartości u osób zdrowych. Wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy stężeniem IL-8 w moczu, a stopniem zaawansowania (T) oraz złośliwości (G) nowotworu. Nie stwierdzono takich zależności dla IL-18.

Wnioski. Zmiany stężenia interleukiny 8 w moczu mogą być pomocne w diagnozowaniu chorych z rakiem pęcherza moczowego. Przeprowadzone jednak badania ze względu na niewielką liczebność pacjentów mogą nie dać się odnieść do populacji ogólnej, a zatem wymagają dalszej oceny zmian stężenia interleukiny 8 w celu potwierdzenia jej potencjału diagnostycznego.

Abstract

Introduction. The participation of cytokines in the development of inflammation is well documented, while recently attention is paid to their role in the pathogenesis of the cancer process. Cytokines show very different, and also diverse action on the cancer progression. The aim of the study was to estimation whether the determination of concentration two interleukins: IL-8 and IL-18 in the urine may be helpful in the diagnosis of bladder cancer.

Material and Methods. The material for examinations was morning urine and serum of patients diagnosed with bladder cancer, verified histopathologically with staging according to TNM (Tumor Nodules Metastases) and grading according to WHO (World Health Organization) classification. Interleukins concentration was determined in the urine by immunoassay method ELISA (Diaclone, R & D Systems).

Results. In patients with bladder cancer, significantly higher mean concentration of both interleukins and total protein in urine were found. The concentration of C-reactive protein in serum was not significantly higher than the value in healthy people. A significant positive correlation was found between the concentration of IL-8 in the urine and the staging (T) and grading (G) of the tumor. There were no such dependences for IL-18.

Conclusions. Changes in IL-8 concentrations in the urine may be helpful in diagnosing patients with bladder cancer. However, the studies conducted due to the small number of patients may not be able to be referred to the general population, and therefore further estimation of interleukin 8 concentration changes is require in order to confirm its diagnostic potential.

Słowa kluczowe: IL-8, IL-18, mocz, rak pęcherza moczowego

Key words: IL-8, IL-18, urine, bladder cancer

Wstęp

Rak pęcherza moczowego stanowi 3% wszystkich nowotworów złośliwych. Klasyfikuje się on na drugim miejscu, zaraz po raku stercza, wśród nowotworów złośliwych układu moczowo-pciowego [1, 2]. Częstość zachorowań niestety wciąż wzrasta, co można tłumaczyć wieloczynnikową etiologią raka pęcherza moczowego oraz późnym jego wykrywaniem. Udowodnione zostało, że osoby palące są o wiele bardziej narażone na wystąpienie raka pęcherza moczowego o wysokiej złośliwości. Istotną rolę w procesie nowotworzenia odgrywają związki chemiczne np. aminy aromatyczne, na które narażeni są pracownicy różnych gałęzi przemysłu. Nie bez znaczenia są również przewlekłe stany zapalne pęcherza moczowego, zakażenia np. *Schistosoma haematobium* oraz uwarunkowania genetyczne [3]. Główne objawy które można zaobserwować w przebiegu choroby sugerują bardzo często bakteryjne zapalenie pęcherza, a u części pacjentów pierwsze oznaki toczącego się procesu nowotworowego w obrębie pęcherza spowodowane są dopiero obecnością przerzutów [1, 3, 4].

Istotnym czynnikiem sprzyjającym rozwojowi wielu ludzkich nowotworów może być przewlekłe zapalenie. Jest to szczególnie widoczne u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i pacjentów z chorobą Crohna, u których bardzo często rozwija się rak jelita grubego [5]. Ważną rolę zarówno w procesie zapalnym jak i w promowaniu guza odgrywają cytokiny, szczególnie interleukiny 8 i 18 (IL-8, IL-18), które są wytwarzane zarówno przez komórki nowotworowe jak i komórki gospodarza w mikrośrodku guza [6]. Ich rola w rozwoju procesu nowotworowego nie jest jednoznaczna. Interleukina 8 jest ważnym mediatorem układu odpornościowego. Jest znanym czynnikiem chemotaktycznym dla neutrofilów ale także dla makrofagów oraz limfocytów T. Stymuluje ich migrację do środowiska guza, co może zmniejszyć jego wzrost [7]. Z jednej strony IL-8 powoduje nagromadzenie neutrofilów, które mogą bezpośrednio niszczyć komórki nowotworowe, a z drugiej strony mogą one uwalniać angiogenne czynniki wzrostu stymulując wzrost naczyń oraz progresję nowotworu [8]. Obecnie uważa się, że rekrutacja neutrofilów do miejsca guza może ułatwić wzrost nowotworu poprzez regulację angiogenezy. Niedawne doniesienia wskazują, że IL-8 stymuluje ekspresję czynnika wzrostu śródbłonka naczyniowego (VEGF; *vascular endothelial growth factor*) w komórkach śródbłonka, oraz indukuje ekspresję metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs; *matrix metalloproteinases*), zwłaszcza MMP-2 i MMP-9, z komórek nowotworowych. Może więc modułować inwazyjność w środowisku guza [8]. Indukcję MMPs przez IL-8 potwierdzono w komórkach czerniaka i w komórkach raka stercza [9]. IL-8 również poprzez nadmierną ekspresję międzykomórkowej i naczyniowej cząsteczki adhezyjnej ICAM-1 i VCAM-1 (*intercellular adhesion molecule 1, vascular cell adhesion protein 1*) oraz E-selektyny, sprzyja przerzutowaniu nowotworów [3, 10]. Zwiększa także populację nowotworowych komórek macierzystych CSCs (*cancer stem cells*), które odpowiedzialne są za inicjację nowotworu i jego przerzuty [11].

Podobnie rola interleukiny-18 w rozwoju procesu nowotworowego nie jest jednoznaczna. Z jednej strony IL-18 uważana jest za silny aktywator cytotoxyczności komórek układu odpornościowego,

co odgrywa znaczącą rolę w eliminacji transformowanych komórek nowotworowych, a co za tym idzie prewencji powstawania nowotworów [12]. Jej działanie przeciwnowotworowe związane jest ze zdolnością do stymulacji proliferacji oraz aktywacji komórek T cytotoxycznych (T CD8+) i NK (*Natural Killer*). Cytokina ta odpowiedzialna jest również za indukowanie limfocytów Th1, przez co wzmacnia odpowiedź komórkową [12]. Badania wykazały zwiększoną odpowiedź przeciwnowotworową oraz poprawę przeżycia pacjentów uzyskaną poprzez bezpośrednie podawanie IL-18, samej bądź w połączeniu z innymi cytokinami (IL-2, IL-12), lub tlenkiem azotu czy 5-fluorouracylem. Ponadto stwierdzono, że IL-18 ma wiele właściwości biologicznych obejmujących także komórki nielimfoidalne [13]. Ewentualna rola IL-18 i jej receptora IL-18BP (*Interleukin-18-binding protein*), jako potencjalnych środków terapeutycznych przeciwko progresji nowotworu wymaga dalszych badań klinicznych [14]. W przeciwieństwie do efektu przeciwnowotworowego IL-18, jej efekt pronowotworowy został dopiero niedawno poznany. Pierwszymi dowodami takiego wpływu była podwyższona ekspresja lub sekrecja IL-18 u pacjentów z rakiem płaskonabłonkowym SCC (*squamous cell carcinoma*) linii komórek czerniaka i rakiem skóry [15]. IL-18 jest cytokiną silnie proprzerutową. Badania dotyczące raka płuc, a także białaczki szpikowej wykazały, że IL-18 indukuje ekspresję metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej, co ułatwia tworzenie się przerzutów [16]. Działanie IL-18 jako stymulatora wystąpienia przerzutów potwierdzają również obserwacje wskazujące, że przyczyną spadku częstości przerzutów do wątroby w przebiegu czerniaka było zmniejszenie stężenia IL-18 wskutek wywołania mutacji w genie dla kaspazy ICE (*interleukin-1 β -converting enzyme*) lub neutralizacji tej cytokiny za pomocą białka wiążącego IL-18BP [17]. IL-18 poprzez stymulację różnych czynników odgrywa kluczową rolę w regulacji ucieczki komórek nowotworowych spod nadzoru immunologicznego [15]. Dodatkowo powoduje ona ekspresję czynnika indukowanego niedotlenieniem (HIF-1 α ; *Hypoxia-Inducible Factor-1 α*), który także pośredniczy w progresji guza [18]. Prowadzone liczne badania nad przydatnością oznaczania tych cytokin jako markerów nowotworowych u chorych na różne nowotwory np. raka płuc, jak również mięsaki tkanek miękkich i kości, okazały się być celowe [19, 20, 21]. W związku z tym uzasadnionym jest badanie i analiza stężeń interleukin w celu udoskonalenia diagnostyki raka pęcherza moczowego. Przemawia za tym, również brak charakterystycznych sygnałów, które pojawiałyby się na wczesnym etapie zaawansowania raka pęcherza, zmusza to do poszukiwania nowych metod diagnostyki oraz ciągłego udoskonalania już istniejących. Jest to bardzo istotne wyzwanie, ponieważ wczesna diagnostyka tej choroby wielokrotnie zwiększa szanse na wyleczenie. Ponadto z punktu widzenia pacjenta ważne jest aby metoda diagnostyczna charakteryzowała się również niską inwazyjnością.

Celem prezentowanej pracy jest ocena stężenia w moczu interleukiny 8 i interleukiny 18 oraz ocena ich przydatności diagnostycznej, jako biomarkerów pomocnych w wykrywaniu procesu nowotworowego toczącego się w pęcherzu moczowym, co może przynieść korzyści diagnostyczne dla pacjentów chorujących na raka pęcherza moczowego i zwiększyć jego wykrywalność.

Materiał i metody

Materiałem do badań był mocz oraz surowica 56 pacjentów z Dolnego Śląska ze zdiagnozowanym rakiem pęcherza moczowego, leczonych na oddziale Urologii i Onkologii Urologicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Grupę kontrolną stanowili zdrowi ochotnicy, bez stwierdzonych (w badaniach lekarskich i laboratoryjnych) chorób układu moczowego. Charakterystykę grupy badanej i kontrolnej przedstawiono w tabeli I. W parametrach opisujących obydwie grupy nie stwierdzono różnic istotnie statystycznych. U chorych rozpoznane klinicznie raka pęcherza moczowego potwierdzono badaniami histopatologicznymi, wykonanymi w Klinice Patomorfologii i Cytologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Na podstawie otrzymanych danych, pacjentów podzielono w zależności od stadium inwazyjności T raka na: Tis, Ta, T1, T2, wg TNM (Tumor Nodules Metastases) i stopni złośliwości G na: G1, G2, G3, wg WHO (World Health Organization) (tab. I).

Na badania uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Nr 360/2016.

Mocz poranny pobierany był od pacjentów do pojemników polietylenowych bez środków konserwujących. Elementy morfologiczne usunięto poprzez wirowanie przez 10 minut przy 1490xg. Krew pobierano na skrzep, a po wykrzepieniu wirowano 10 minut przy 1490xg. Otrzymaną surowicę oraz mocz przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonywania oznaczeń. W surowicy oznaczono stężenie białka CRP (C-reactive protein) testem komercyjnym Konelab™ o wysokiej czułości, opartym na pomiarze immunoprecypitacji. Za kryterium wskazującym stan zapalny przyjęto wartość $>5,0$ mg/l. Stężenia IL-8 oraz IL-18 w moczu oznaczono metodą immunoenzymatyczną testem ELISA wg procedury przedstawionej przez producenta (Diacclone, R&D Systems). Stężenie kreatyniny w moczu oznaczono metodą Jaffe'go (reakcja kwasu pikrynowego z kreatyniną w środowisku kwaśnym), a białko całkowite metodą spektrofotometryczną z zastosowaniem czerwieni pirogalolu i molibdenianu.

Otrzymane wyniki opracowano za pomocą programu Statistica

13.1. Rozkład danych sprawdzono za pomocą testu Kołmogorowa-Smirnova i Lilieforsa. W dalszej analizie statystycznej zastosowano nieparametryczny test U-Manna Whitney'a. Obliczono wartości średnie, mediany i zakresy wyników. Analizę korelacji między badanymi parametrami dokonano na podstawie współczynnika Spearmana. Przyjęto wartości $p<0,05$ za statystycznie istotne. Wykreślono krzywe ROC (Receiver Operating Characteristic), obliczono pole pod krzywą AUC (Area Under Curve), wyznaczono punkt odcięcia, obliczono czułość, swoistość, dokładność, wartość predykcyjną dodatnią i ujemną oraz dodatni i ujemny iloraz wiarygodności.

Wyniki

W grupie pacjentów chorych na raka pęcherza moczowego stwierdzono istotnie wyższe średnie stężenia IL-8 ($p=0,002$), IL-18 ($p=0,035$) oraz białka całkowitego ($p=0,022$) w moczu w odniesieniu do grupy porównawczej (tab. II). Analizując wyniki poszczególnych pacjentów stwierdzono, że u 70% badanych stężenie IL-8 w moczu było wyższe, niż średnia wartość tej interleukiny w grupie porównawczej. Najwyższe wartości IL-8, przekraczające 100-krotnie wartość średnią w grupie porównawczej, stwierdzono u pacjentów o najwyższym stadium zaawansowania nowotworu (T2G3), natomiast najniższe u pacjentów, u których zdiagnozowano nowotwór o niskim stopniu zaawansowania, nie przekraczający błony podstawowej nabłonka (TaG1). Stężenie IL-18 jedynie u 50% badanych było wyższe od średniej wartości wyznaczonej dla grupy porównawczej. Jej najwyższe wartości stwierdzono u pacjentów z nowotworem o niskim stopniu złośliwości (G1), w którym guz nie przekraczał błony podstawowej nabłonka (Ta). Średnie stężenie białka C-reaktywnego w surowicy chorych (4,54 mg/l) nie było istotnie statystycznie wyższe ($p>0,05$) od wartości uzyskanych u osób zdrowych (3,4 mg/l). Nie stwierdzono również istotnych różnic stężeń IL-8 i IL-18 w grupie pacjentów z prawidłowym stężeniem białka C-reaktywnego (≤ 5 mg/l), a podwyższonym CRP (>5 mg/l). Nie wykazano korelacji liniowej pomiędzy oznaczanymi interleukinami w moczu a białkiem C-reaktywnym w surowicy. Stwierdzono natomiast istotną zależność ($R=0,613$; $p<0,001$) pomiędzy stężeniem IL-8, a białkiem całkowitym w moczu badanych pacjentów.

W badanej grupie pacjentów zdiagnozowany rak pęcherza moczowego był różnicowany zarówno pod względem zaawansowania

Tabela I. Charakterystyka grupy badanej i kontrolnej.

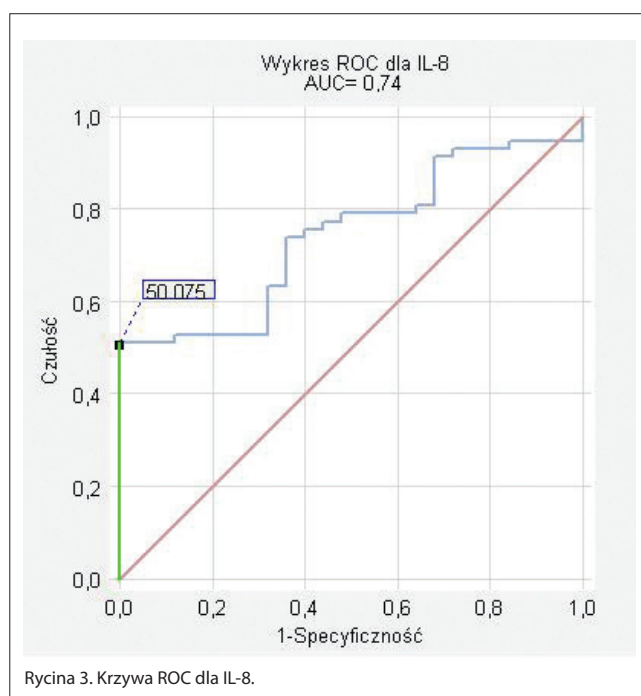
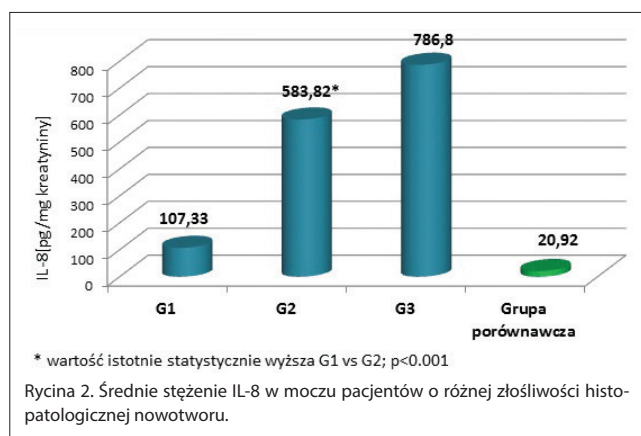
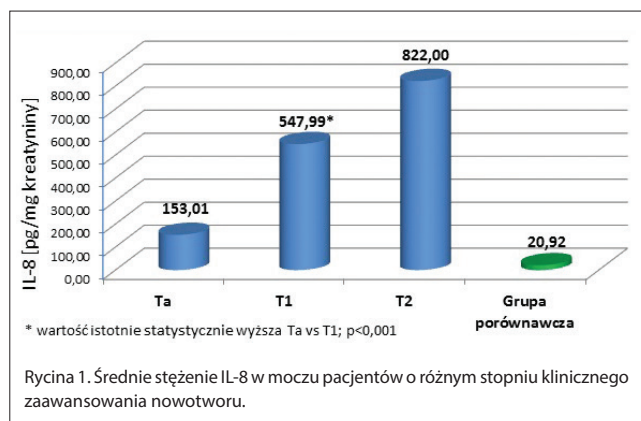
	Chorzy n (%)	Grupa porównawcza n (%)
Liczba w grupach	56	25
Mężczyźni	48(86)	18(72)
Kobiety	8(14)	7(28)
Średnia wieku	69	66
(przedział wieku)	(36-87)	(54-81)
Palacze	18(36)	9(36)
Byli palacze	19(38)	11(44)
Niepalący	13(26)	5(20)
Stopnie inwazyjności (T)		
Ta	30(54)	-
T1	16(28)	-
T2	4(7)	-
TIS	6(11)	-
Stopnie złośliwości (G)		
G1	26(46)	-
G2	22(39)	-
G3	8(15)	-

Tabela II. Wartości oznaczanych parametrów w grupie badanej i kontrolnej.

	Grupa badana		
	Białko całkowite [μg/ml]	IL-8 [pg/mg krt.]	IL-18 [pg/mg krt.]
\bar{X}	370,27	305,24	3451,49
Me	153,62	30,04	1323,53
Min	10,18	4,28	11,425
Max	2199,78	2341,75	14713,86
	Grupa kontrolna		
\bar{X}	117,71	20,92	1774,65
Me	130,18	15,91	464,61
Min	5,09	6,48	35,82
Max	385,35	43,56	6890,41

\bar{X} – wartości średnie; Me – mediana; min – wartość minimalna stężenia; max – wartość maksymalna stężenia

klinicznego (TIS, Ta, T1, T2) jak i potencjału złośliwości komórek (G1, G2, G3). Najniższe wartości obu interleukin stwierdzono w przypadku zmian powierzchniowo płaskich – TIS (IL-8 – 88,42 pg/mg kreatyniny, IL-18 – 2062,43 pg/mg kreatyniny). Średnie stężenia IL-8 w grupie pacjentów mających zmiany o charakterze brodawkowatym, w zależności od stopnia klinicznego zaawansowania nowotworu oraz jego złośliwości histopatologicznej, przedstawiono odpowiednio na rycinie 1 i 2. Wykazano istotną dodatnią zależność pomiędzy stężeniem IL-8 w moczu, a stopniem



zaawansowania raka pęcherza T ($R=0,539$; $p<0,001$), oraz stopniem złośliwości nowotworu G ($R=0,526$; $p<0,001$). Stwierdzono istotnie statystycznie wyższe wartości IL-8 w stadium T1 ($p<0,001$) w porównaniu ze stopniem inwazyjności Ta. Ponadto średnie stężenie IL-8 w stopniu złośliwości histopatologicznej G2 było istotnie wyższe w stosunku do stopnia G1 ($p<0,0001$).

Nie stwierdzono takich zależności dla IL-18. Jej stężenie było najwyższe w raku nieinwazyjnym i nie przekraczającym błony podstawnej nabłonka Ta (4048 pg/mg kreatyniny). Analizując wartość stężenia IL-18 w zależności od stopnia złośliwości histopatologicznej G, zaobserwowano nieistotny wzrost jej stężenia w moczu chorych wraz ze wzrostem złośliwości raka.

Przeprowadzone badania wykazały, przewagę IL-8 nad IL-18, jako potencjalnego markera w raku pęcherza moczowego. Dlatego rozszerzono analizę określającą przydatność diagnostyczną IL-8. Wykreślono krzywą ROC, na jej podstawie obliczono pole pod krzywą ($AUC=0,74$) i wyznaczono punkt odcięcia dla IL-8 (50,075 pg/mg kreatyniny) (ryc. 3). Pozostałe parametry oceniające wartość diagnostyczną IL-8 przedstawiono w tabeli IV.

Nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami obu interleukin w moczu w zależności od płci pacjentów. Jednak mężczyźni stanowili zdecydowaną większość pacjentów (86%), co potwierdza, iż płeć męska jest istotnym czynnikiem

Tabela III. Średnie wartości oznaczonych parametrów w moczu pacjentów z uwzględnieniem palenia papierosów.

Parametry Grupy	Białko całkowite [$\mu\text{g/ml}$]	IL-8 [pg/mg krt.]	IL-18 [pg/mg krt.]
Niepalący	\bar{X}	411,95	4073,02
	Me	140,59	3740,74
	Min	36,63	235,69
	Max	1900,69	9209,49
Byli palacze	\bar{X}	475,05	2651,52
	Me	140,67	856,98
	Min	10,18	147,97
	Max	2199,78	13440,11
Aktualnie palący	\bar{X}	379,04	3495,53
	Me	225,30	1323,53
	Min	12,28	101,41
	Max	1236,89	16607,54

\bar{X} – wartości średnie; Me – mediana; min – wartość minimalna stężenia; max – wartość maksymalna stężenia

Tabela IV. Parametry opisujące wartość diagnostyczną IL-8.

Parametry diagnostyczne	IL-8
Czułość [%]	49,1
Swoistość [%]	15,8
PPV	52,8
NPV	0,0
ACC [%]	34,1
LR+	0,491
LR-	-
AUC	0,74
Punkt odcięcia	50,075

PPV-wartość predykcyjna dodatnia; NPV-wartość predykcyjna ujemna; ACC-dokładność; LR+ dodatni iloraz wiarygodności; LR-ujemny iloraz wiarygodności; AUC – pole pod krzywą ROC.

ryzyka tego nowotworu. Podobnie nie zaobserwowano istotnego statystycznie wpływu wieku na wartości IL-8 i IL-18 w moczu pacjentów. Jednak ponad 91% stanowili pacjenci po 55 roku życia. Potwierdza to informację, że rak pęcherza moczowego jest nowotworem występującym u ludzi w podeszłym wieku. Uważa się że palenie papierosów jest jednym z głównych czynników ryzyka wystąpienia raka pęcherza moczowego. Informacje na temat palenia uzyskano od 50 osób. Średnie wartości oznaczonych parametrów w moczu pacjentów w grupach uwzględniających palenie papierosów przedstawiono w tabeli III. W badanej grupie chorych z Dolnego Śląska nie stwierdzono istotnego wpływu palenia papierosów na stężenia interleukin w moczu.

Dyskusja

W przedstawionej pracy podjęto próbę określenia przydatności oznaczeń w moczu interleukiny 8 oraz 18 jako potencjalnych biomarkerów, ułatwiających wykrycie procesu nowotworowego toczącego się w pęcherzu moczowym, poprzez pomiar ich stężenia w nieinwazyjnym materiale biologicznym, jakim jest mocz. W badaniach własnych wykazano istotnie statystycznie wyższe stężenie IL-8 jak i IL-18 w moczu pacjentów z Dolnego Śląska ze zdiagnozowanym rakiem pęcherza moczowego, od wartości tych wskaźników w moczu osób zdrowych. Wysokie stężenie tych cytokin w moczu chorych na raka pęcherza może wynikać z faktu, że mocz ma bezpośredni i stosunkowo długi kontakt z komórkami zmienionymi nowotworowo (masą guza). Badania innych autorów wykazały, że w miarę rozwoju procesu nowotworowego może być pobudzana ekspresja tych interleukin w komórkach nowotworowych. Potwierdzono to na liniach komórkowych różnych złośliwych nowotworów [22]. Podobnie w przebiegu takich nowotworów jak rak żołądka, jelita grubego, trzustki, rak piersi czy szpiczak mnogi wykazano wysokie stężenia tych interleukin w surowicy [23-27]. Uzyskane wysokie stężenie IL-8 w badaniach własnych w moczu pacjentów z Dolnego Śląska są zbliżone do wyników Sheryka i wsp. [28] uzyskanych w grupie pacjentów z rakiem pęcherza moczowego. Brak jest natomiast danych literaturowych dotyczących wartości IL-18 w moczu u chorych na raka pęcherza moczowego. Jedynie badania Bukan i wsp. [29] wykazały wyższe stężenia IL-18 w surowicy pacjentów z tym nowotworem. W badaniach własnych stwierdzono wzrost średnich wartości IL-8 w moczu pacjentów wraz z rozwojem zmian nowotworowych w ścianie pęcherza moczowego (T). Uzyskane wyniki sugerują, że stężenie IL-8 w moczu może być markerem prognozującym bardziej inwazyjną zmianę nowotworową. Wzrost stężenia IL-8 może stanowić mechanizm obronny komórek nowotworowych chroniący je przed apoptozą oraz ułatwiający ich wzrost. IL-8 poprzez wpływ na szlaki sygnałowe, w tym fosfolipazę C i kinazę fosfatydyloinozytolu powoduje aktywację czynnika NF- κ B (*nuclear factor- κ B*), który intensywnie aktywowany jest w komórkach nowotworowych [30, 31] Nadekspresja IL-8 propaguje przeżycie komórek nowotworowych poprzez ekspresję genów antyapoptotycznych jak Bcl-2 czy surwiwina [32-35]. Ułatwia również wzrost nowotworu poprzez stymulację angiogenezy [39, 40]. Prowadzi to do zwiększonej proliferacji komórek nowotworowych i progresji guza. Uzyskany w badaniach własnych wzrost stężenia IL-8

w moczu pacjentów wraz z rozwojem zmian nowotworowych potwierdzają badania Reisa i wsp. [38]. Autorzy najniższą ekspresję IL-8 i MMP-9 wykryli w tkankach pacjentów z niskim stopniem zaawansowania nowotworu (Ta), a najwyższą u pacjentów z nowotworem naciekającym już warstwę mięśniową (T2). Badania genetyczne Feng i wsp. [39] wykazały, iż ekspresja genu dla IL-8 w próbkach tkanek raka pęcherza moczowego pochodzących z nowotworów o wysokim stopniu złośliwości G, była wyższa w porównaniu do próbek pochodzących z nowotworu o małym potencjalne złośliwości. W badaniach własnych wykazano ponadto wzrost stężenia IL-8 w moczu pacjentów wraz ze wzrostem stopnia złośliwości G. Wzrost stężenia IL-8 w moczu wraz ze wzrostem inwazyjności i złośliwości raka pęcherza moczowego, wykazali w swoich badaniach AL-biaty i wsp. [40]. Autorzy ci, podobnie jak my, nie stwierdzili wpływu wieku, płci, czy palenia papierosów na stężenie IL-8 [43]. Natomiast Kowalska i wsp. [2] w przeciwieństwie do naszych obserwacji, nie wykazali wyższych stężeń IL-8 w moczu wraz ze stopniem zaawansowania klinicznego (T).

Nasze badania wykazały, że stężenie IL-18 było istotnie wyższe w całej grupie chorych lecz nie korelowało z cechami kliniczno-patologicznymi, powodem mógł być wysoki odsetek chorych (45%) o niskim stopniu zaawansowania choroby. Nie wykazano wzrostu stężenia IL-18 wraz z rozwojem zmian nowotworowych (T) oraz stopniem złośliwości histologicznej (G). Stężenie IL-18 u pacjentów z nowotworami będącymi we wczesnym stadium rozwoju (Ta) i charakteryzujących się małą złośliwością (G1) było najwyższe. Brak jest danych literaturowych dotyczących oznaczeń IL-18 w moczu chorych na ten nowotwór. Jedynie Bukan i wsp. [29] w badaniach dotyczących stężeń IL-18 w surowicy chorych na raka pęcherza wykazali najwyższe wartości tej cytokiny u pacjentów mających nowotwór we wczesnym stadium rozwoju (Ta) i charakteryzujących się małą złośliwością (G1). Dane z piśmiennictwa wskazują, że IL-18 może mieć wpływ na wystąpienie nawrotu choroby. W jednym z badań wykazano, że tkanki nowotworowe pobrane od pacjentów, u których miał miejsce nawrót raka pęcherza, charakteryzowały się częściej wysoką ekspresją genu dla IL-18 niż tkanki nowotworowe pobrane od chorych, u których rak pęcherza moczowego wystąpił po raz pierwszy [10]. Rola IL-18 w rozwoju procesu nowotworowego nie jest jednoznaczna. Cytokina ta z jednej strony ma zdolność indukcji reakcji immunologicznej Th1 oraz Th2, a także pośredniczy w zwiększaniu aktywności komórek NK. Aktywacja cytotoksyczności komórek układu odpornościowego jest przyczyną eliminacji z organizmu transformowanych komórek, co w efekcie ochrania organizm przed rozwinięciem się procesu nowotworowego. Z drugiej jednak strony stwierdzono, że IL-18 może wpływać na proces angiogenezy oraz powstawania przerzutów odległych [12].

Wykazane zmiany stężeń IL-8 w moczu mogą być cenną wskazówką w diagnozowaniu i monitorowaniu chorych z rakiem pęcherza moczowego. Przeprowadzone jednak badania, ze względu na niewielką liczebność pacjentów mogą nie dać się odnieść do populacji ogólnej, a zatem wymagają dalszej oceny IL-8 w celu potwierdzenia jej potencjału diagnostycznego. Dlatego badania będą kontynuowane z udziałem większej liczby pacjentów, zarówno zdiagnozowanych po raz pierwszy jak i ze wznową choroby.

Badania w ramach Działalności Statutowej ST.D150.16.013

Autorzy dziękują Panu dr Pawłowi Kowalowi za udostępnienie materiału biologicznego.

Piśmiennictwo

- Krajewski W, Kołodziej A, Dembowski J, et al. Genetyczne i immunologiczne uwarunkowania odpowiedzi na dopęcherzową terapię BCG w raku urotelialnym pęcherza moczowego nienaciekającym błony mięśniowej. *Postepy Hig Med Dosw.* 2014; 68: 291-300.
- Kowalska M, Fuksiewicz M, Kotowicz B, et al. Przydatność oznaczania markerów nowotworowych i cytokin u chorych na raka pęcherza. *Diagn Lab.* 2009; 45: 149-154.
- Serwis medyczny dla pacjentów i lekarzy. Internet: http://www.onkonet.pl/dp_nump_npecherza.html (accessed 22.12.2014).
- Oosterlinc W, Lobel B, Jakse G, et al. Guidelines on bladder Cancer. *Eur Urol.* 2002; 41: 105-112.
- Parikh CR, Mishra J, Thiessen-Philbrook H, et al. Urinary IL-18 is an early predictive biomarker of acute kidney injury after cardiac surgery. *Kidney Int.* 2006; 70: 199-203.
- Vidal-Vanlocha F, Fantuzzi G, Mendoza L, et al. IL-18 regulates IL-1 β -dependent hepatic melanoma metastasis via vascular cell adhesion molecule-1. *PNAS.* 2000; 97: 734-739.
- Braicu C, Cojocneanu-Petric R, Chira S, et al. Clinical and pathological implications of miRNA in bladder cancer. *Int J Nanomedicine.* 2015; 10: 791-800.
- Gilowska I. CXCL8 (interleukina 8) – główny mediator stanu zapalnego w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc? *Postepy Hig Med Dosw.* 2014; 68: 842-850.
- Fabbi M, Carbotti G, Ferrini S. Context-dependent role of IL-18 in cancer biology and counter-regulation by IL-18BP. *J Leukoc Biol.* 2015; 97: 665-675.
- Vidal-Vanlocha F, Mendoza L, Telleria N, et al. Clinical and experimental approaches to the pathophysiology of interleukin-18 in cancer progression. *Cancer Metastasis Rev.* 2006; 25: 417-434.
- Palma G, Barbieri A, Bimonte S, et al. Interleukin 18: Friend or foe in cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2013; 1836: 296-303.
- Park S, Cheon S, Cho D. The Dual Effects of Interleukin-18 in Tumor Progression. *Cell Mol Immunol.* 2007; 4: 329-335.
- Boraschi D, Dinarello CA. IL-18 in autoimmunity: review. *Eur Cytokine Netw.* 2006; 17: 224-252.
- Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL. Neutrophil-activating Peptide-1/Interleukin 8, a Novel Cytokine That Activates Neutrophils. *J Clin Invest.* 1989; 84: 1045-1049.
- Yuen CM, Chiu CA, Chang LT, et al. Level and Value of Interleukin-18 After Acute Ischemic Stroke. *Circ J.* 2007; 71: 1391-1696.
- Blankenberg S, Luc G, Ducimetiere P, et al. Interleukin-18 and the Risk of Coronary Heart Disease in European Men. *Circulation.* 2003; 108: 2453-2459.
- Carrascal M, Mendza L, Valcarcel M. Interleukin-18 binding protein reduces B16 melanoma hepatic metastasis by neutralizing adhesiveness and growth factors of sinusoidal endothelium. *Cancer Res.* 2003; 63: 491-497.
- Finotto S, Siebler J, Hausding M, et al. Severe hepatic injury in interleukin 18 (IL-18) transgenic mice: a key role for IL-18 in regulating hepatocyte apoptosis in vivo. *Gut.* 2004; 53: 392-400.
- Jeon S, Lee S, Chang S. Clinical significance of urinary vascular endothelial growth factor in patients with superficial bladder tumors. *Oncol Rep.* 2001; 8: 1265-1267.
- Kamińska J, Kowalska M, Kotowicz B, et al. Pretreatment serum levels of cytokines and cytokine receptors in patients with nonsmall cell lung cancer, and correlations with clinicopathological features and prognosis. *Oncology.* 2006; 70: 115-125.
- Kamińska J, Nowacki M, Kowalska M. Correlation of serum cytokines with clinicopathological features and prognosis in patients with colorectal carcinoma soluble sTNF RI an independent prognostic factor. *Tumour Biol.* 2005; 26: 186-194.
- Park H, Byun D, Kim T. Enhanced IL-18 expression in common skin tumors. *Immunol Lett.* 2001; 79: 215-219.
- Alexandrakis M, Passam F, Sfridakis K. Interleukin-18 in multiple myeloma patients: serum levels in relation to response to treatment and survival. *Leuk Res* 2004; 28: 259-266.
- Tas F, Yasasever C, Karabulut S, et al. Clinical significance of serum interleukin-18 (IL-18) levels in patients with gastric cancer. *Biomed Pharmacother.* 2015; 70: 19-23.
- Eissa S, Zaki S, El-Maghraby S, et al. Importance of Serum IL-18 and RANTES as Markers for Breast Carcinoma Progression. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2005; 17: 51-55.
- Chen Y, Shi M, Yu GZ, et al. Interleukin-8, a promising predictor for prognosis of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol.* 2012; 18: 1123-1129.
- Jin WJ, Xu JM, Xu WL, et al. Diagnostic value of interleukin-8 in colorectal cancer: A case-control study and meta-analysis. *World J Gastroenterol.* 2014; 20: 16334-16342.
- Sheryka E, Wheeler MA, Hausladen DA, et al. Urinary interleukin-8 are elevated in subjects with transitional cell carcinoma. *Urology.* 2013; 62: 162-166.
- Bukan N, Sozen S, Coskun U, et al. Serum interleukin-18 and nitric oxide activity in bladder carcinoma. *Eur Cytokine Netw.* 2003; 15: 163-167.
- David JM, Dominguez C, Hamilton DH, et al. The IL-8/IL8R Axis: A Double Agent in Tumor Immune Resistance. *Vaccines.* 2016; 22: 1-15.
- Gales D, Clark C, Manne U, et al. The Chemokine CXCL8 in Carcinogenesis and Drug Response. *ISRN Oncol.* 2013; 2013: 859154.
- Cotton JA, Platnich JM, Muruve DA, et al. Interleukin-8 in gastrointestinal inflammation and malignancy: induction and clinical consequences. *Int J Interferon Cytokine Mediator Res.* 2016; 8: 13-34.
- Campbell LM, Maxwell PJ, Waugh DJJ. Rationale and Means to target Pro-Inflammatory Interleukin-8 (CXCL8) Signaling in Cancer. *Pharmaceuticals.* 2013; 6: 929-959.
- Acorci MJ, Dias-Melicio LA, Golim MA, et al. Inhibition of Human Neutrophil Apoptosis by Paracoccidioides brasiliensis: Role of Interleukin-8. *Scand J Immunol.* 2008; 69: 73-79.
- Wilson C, Wilson T, Johnston PG, et al. Interleukin-8 signaling attenuates TRAIL – and chemotherapy – induced apoptosis through transcriptional regulation of c-FLIP in prostate cancer cells. *Mol Cancer Ther.* 2008; 7: 2649-2661.
- Shi J, Wei PK. Interleukin-8: A potent promoter of angiogenesis in gastric cancer. *Oncol Lett.* 2016; 11: 1043-1050.
- Zhu B, Lin N, Zhang M, et al. Activated hepatic stellate cells promote angiogenesis via interleukin-8 in hepatocellular carcinoma. *J Transl Med.* 2015; 13: 1-10.
- Reis ST, Leite KRM, Piovesan LF, et al. Increased expression of MMP-9 and IL-8 are correlated with poor prognosis of Bladder Cancer. *BMC Urology.* 2012; 12: 1-5.
- Feng C, Wang L, Ding G, et al. BLC1A1 expression is associated with angiogenesis of bladder cancer and is correlated with common pro-angiogenic factors. *Int J Clin Exp Med.* 2015; 8: 16259-16265.
- Al-biaty HSJ, Saleem MA, Al-Azzawi IS, Yaseen NY. Urinary IL-8 and BLC1A-4 in detection of bladder cancer and their clinical significant. *IJCMG.* 2015; 8: 31-44.

Autor do korespondencji:

dr Zofia Marchewka

Katedra i Zakład Toksykologii

Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej

Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

50-556 Wrocław, ul. Borowska 211

tel. +48 71 7840451

e-mail: zofia.marchewka@umed.wroc.pl

Otrzymano: 15.03.2018

Akceptacja do druku: 12.06.2018

Nie zgłoszono sprzeczności interesów

