

IRENA PORĘBSKA, RENATA JANKOWSKA, PAWEŁ PIESIAK, TOMASZ DYŁA, WOJCIECH SZELIGA

## Analiza VEGF i IL-8 w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych i w surowicy chorych na sarkoidozę

### VEGF and IL-8 Analysis in BALF and Sera of Patients with Sarcoidosis

Katedra i Klinika Chorób Płuc Akademii Medycznej we Wrocławiu

#### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Sarkoidoza jest przewlekłą układową chorobą, której etiologia nie jest poznana. Wiadomo, iż w patogenezie schorzenia podstawową rolę odgrywa nieprawidłowa odpowiedź immunologiczna, której wykładnikiem jest przewlekły ziarniniakowy proces zapalny. W ostatnich latach jest również dyskutowany udział innych procesów, w tym angiogenezy. Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) jest promotorem angiogenezy, zwiększa przepuszczalność naczyń krwionośnych, wykazuje zdolność do rekrutacji monocytów. IL-8 jest cytokiną prozapalną i, jak wykazano ostatnio, również uczestniczy w modulacji procesu nowotworzenia naczyń.

**Cel pracy.** Celem badań było zbadanie i porównawcza analiza stężeń VEGF oraz IL-8 w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych (BALF) i w surowicy chorych na sarkoidozę.

**Materiał i metody.** Do badania zakwalifikowano 24 pacjentów w celu oznaczenia VEGF (wśród nich u 18 oznaczono IL-8) oraz 8 osób bez patologii płucnej (zarówno dla VEGF, jak i IL-8). Badania zostały wykonane z użyciem metody immunoenzymatycznej (ELISA).

**Wyniki.** Średnie stężenie VEGF w BALF w grupie chorych na sarkoidozę ( $69,12 \pm 15,8$  pg/ml, zakres 0,00–255,0) było wyższe niż obserwowane w grupie osób zdrowych ( $32,13 \pm 9,5$  pg/ml, zakres 0,00–62,0). Odpowiednie wartości dla IL-8 wynosiły:  $22,56 \pm 7,5$  pg/ml (zakres 0,0–125) i  $9,33 \pm 5$  pg/ml (zakres 0,0–31,0). Obserwowane wyniki nie osiągnęły wartości istotnych statystycznie. Nie wykazano różnic w stężeniach badanych cytokin w surowicy pacjentów chorych na sarkoidozę w porównaniu do grupy kontrolnej. Zarówno w odniesieniu do VEGF, jak i IL-8 w BALF nie stwierdzono korelacji z wybranymi parametrami klinicznymi pacjentów, u których stwierdzono sarkoidozę.

**Wnioski.** Uzyskane wyniki wskazują na możliwy udział czynników proangiogennych w patologii sarkoidozy, wartość kliniczna ich oznaczania wymaga jednak dalszych badań (Adv Clin Exp Med 2004, 13, 4, 555–560).

**Słowa kluczowe:** VEGF, IL-8, sarkoidoza.

#### Abstract

**Background.** Sarcoidosis is a chronic systemic disease of unknown etiology. Impaired immunology response resulting in granulomatous inflammation is widely accepted in sarcoidosis pathology, but the possible role of other molecular processes including angiogenesis is discussed. Vascular endothelial growth factor (VEGF) promotes new vessel development, enhance vascular permeability and recruits monocytes. IL-8 is a cytokine with a broad spectrum of proinflammatory effects and recently described angiogenic activity.

**Objectives.** The aim of the study was comparative analysis of VEGF and IL-8 concentration in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and serum specimens collected from patients with sarcoidosis.

**Material and Methods.** 24 patients for VEGF, among them 18 for IL-8 and 8 control subjects without lung pathology were enrolled. A sandwich enzyme linked immunoadsorbent assay (ELISA) was used to study the VEGF and IL-8 in BALF and sera.

**Results.** The mean VEGF concentration in BALF for the sarcoid group ( $69.12 \pm 15.8$  pg/ml, range 0.00–255.0) was higher than observed in control subjects ( $32.13 \pm 9.5$  pg/ml, range 0.00–62.0). The corresponding values for IL-8 were:  $22.56 \pm 7.5$  pg/ml (range 0.0–125) i  $9.33 \pm 5$  pg/ml (range 0.0–31.0). Trend for higher angiogenic cytokine level in BALF of sarcoid subjects did not reach statistical significance. The VEGF and IL-8 concentration in sera of control group and sarcoidosis one was comparable. There were no correlation between VEGF and IL-8 BALF level and clinical parameters of sarcoid patients.

**Conclusions.** The results indicate a trend towards higher concentration of VEGF and IL-8 in BALF taken from sarcoid patients as compared to control ones what can be connected with activation of angiogenesis in sarcoidosis, but it is still difficult to determine the clinical value of angiogenic marker analysis in BALF (*Adv Clin Exp Med* 2004, 13, 4, 555–560).

**Key words:** VEGF, IL-8, sarcoidosis.

Sarkoidoza jest przewlekłą ogólnoustrojową chorobą ziarniniakową o nieustalonej etiologii. Zmiany płucne stwierdza się u ponad 90% chorych i podobnie jak w innych narządach pozapłucnych mają charakter nieserowacjących ziarniniaków złożonych z komórek nabłonkowych [1]. W patologii płucnej schorzenie to ze względu na lokalizację procesu należy do grupy chorób śródmiąższowych [2]. Rokowanie w sarkoidozie jest stosunkowo dobre. Choroba ta rzadko prowadzi do włóknienia tkanki płucnej i często wycofuje się samoistnie. Mimo licznych badań, szczegółowy patomechanizm sarkoidozy nie został wyczerpująco poznany, stąd nie jest możliwe leczenie przyczynowe schorzenia. Trwają prace mające na celu określenie możliwości nowych metod terapeutycznych oraz wskazanie czynników rokowniczych [1, 2].

Proces powstawania naczyń krwionośnych na podłożu już istniejących, określane jako angiogeneza, odgrywa ważną rolę w wielu stanach chorobowych: nowotworach, reumatoidalnym zapaleniu stawów, retinopatii proliferacyjnej, chorobie niedokrwiennej serca i gojeniu się ran [3]. Znaczenie nowotworzenia naczyń krwionośnych w patogenezie przewlekłych chorób śródmiąższowych płuc (ILD – interstitial lung diseases) nie jest dobrze poznane. Niewątpliwie istnieją jednak związki między angiogenezą a przewlekłym procesem zapalnym, będącym podstawowym elementem patogenetycznym sarkoidozy. Komórki nacieku zapalnego, np. makrofagi i limfocyty, są zdolne do wytwarzania czynników angiogennych. Czynniki prozapalne pełnią również rolę modulatorów angiogenezy, a deficyt tlenu pojawiający się w ogniskach nacieku zapalnego może indukować syntezę białek proangiogennych, np. naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF – vascular endothelial growth factor) [4–6]. W przebiegu sarkoidozy, podobnie jak w innych ILD, dochodzi do zmian w mikrokrążeniu, o czym świadczą badania histopatologiczne tkanki płucnej chorych ujawniające mikroangiopatię w obszarach zapalnie zmienionych pęcherzyków płucnych [7, 8]. Wykazano, iż nadwyżka uzyskana z popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych pacjentów chorych na sarkoidozę może indukować migrację i chemotaksję komórek śródbłonna i fibroblastów [9]. Wykryto również wzmożoną aktywność angiogenną surowicy chorych na choroby śródmiąższowe [10]. Wiadomo, iż w patogenezie sarkoidozy dużą rolę odgrywa proliferacja

i akumulacja komórek pościeliska oraz zapalnych. Ta ekspansja ziarniny może być ułatwiona wskutek aktywacji angiogenezy [11].

Ze względu na udział procesów angiogenezy w rozwoju zapalenia, będącego najistotniejszym procesem patogenetycznym tej grupy chorób, badanie czynników angiogennych w surowicy i popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych może być pomocne w określeniu znaczenia procesu nowotworzenia naczyń i przyczynić się do poszerzenia możliwości prognozowania i terapii.

Opierając się na założeniu, iż w sarkoidozie proces angiogenezy ma wpływ na rozwój procesu patofizjologicznego celem pracy było: oznaczenie oraz porównawcza analiza stężenia VEGF i interleukiny 8 (IL-8) w surowicy i popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych chorych na sarkoidozę płuc oraz osób zdrowych. W odniesieniu do chorych na sarkoidozę płuc podjęto próbę określenia korelacji stężeń badanych białek z wybranymi wskaźnikami kliniczno-patologicznymi (aktywność choroby, wiek i płeć chorych, odsetek limfocytów w popłuczynach oskrzelikowo-pęcherzykowych, wartość pojemności życiowej płuc).

## Material i metody

Badanie oparto na analizie popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych i surowicy pacjentów hospitalizowanych w Dolnośląskim Centrum Chorób Płuc w latach 2001–2002. Rozpoznanie sarkoidozy oparto na analizie obrazu klinicznego, wyniku badań obrazowych oraz badania histopatologicznego wycinka płuc i/lub węzła chłonnego pobranych drogą przezoskrzelowej biopsji płuc lub biopsji otwartej. U wszystkich wykonano posiewy popłuczyn w kierunku gruźlicy, które okazały się ujemne. Spośród ogółu chorych hospitalizowanych z powodu sarkoidozy wykluczono pacjentów, u których rozpoznanie nie było dokładnie ustalone, chorych leczonych immunosupresyjnie obecnie lub w przeszłości, oraz u tych, u których jednocześnie stwierdzono zakażenie dróg oddechowych (objawy kliniczne potwierdzone dodatnim wynikiem badań mikrobiologicznych), a także pacjentów w stadium S4 cytowanego niżej podziału Stiltzbacha (zaawansowane zmiany włókniste z pęcherzami rozedmowymi i podciągnięciem wnek do góry).

Po spełnieniu powyższych kryteriów do badania zakwalifikowano 25 chorych na sarkoidozę. Aktywność choroby określono zgodnie z wytycznymi Amerykańskiego Towarzystwa Chorób Klatki Piersiowej [2] rozpoznając aktywną postać choroby u 13 osób i nieaktywną u 12 chorych. Chorych rozdzielono na grupy uwzględniając stadium według powszechnie stosowanego podziału radiologicznego Stiltzbacha [12]: S1 – postać węzłowa, S2 – postać węzłowo-płucna i S3 – postać płucna (nie kwalifikowano chorych w stadium S4). U 25 osób oznaczono VEGF, a wśród nich u 18 dodatkowo IL-8. Podstawowe dane dotyczące chorych przedstawiono w tabeli 1.

Grupę kontrolną 8 osób rekrutowano spośród pacjentów przyjętych z podejrzeniem choroby śródmiąższowej, u których nie potwierdzono obecności patologii płucnej.

Projekt badania uzyskał akceptację Komisji Bioetycznej Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu.

U wszystkich pacjentów wykonano bronchoskopię i płukanie oskrzelikowo-pęcherzykowe (BAL) za pomocą bronchofibroskopu firmy Olympus BF typ 1T20D, metodą zaproponowaną przez Europejskie Towarzystwo Oddechowe [13]. Po ocenie anatomii drzewa oskrzelowego i wyglądu błony śluzowej, końcówkę bronchoskopu klinowano w oskrzeli B4 lub B5 płata środkowego płuca prawego lub języczka płuca lewego. Następnie wykonywano płukanie oskrzelikowo-pęcherzykowe, podając sól fizjologiczną podgrzaną do temperatury 37°C w porcjach po 20 ml, natychmiast delikatnie odsysając ją strzykawką, by nie doprowadzić do zapadania się ścian oskrzeli. Ogólna objętość podanej soli wynosiła 140–200 ml. Odzyskany płyn

(BALF – bronchoalveolar fluid) przenoszono do jałowych 50 ml probówek typu FALCON i zabezpieczano do dalszego opracowania w temperaturze 4°C nie dłużej niż 5 godzin. W uzyskanym aspiracie określano skład odsetkowy komórek. Nadsącz pozyskany po odwirowaniu frakcji komórkowych zabezpieczano w temperaturze –80°C do wykonania oznaczeń cytokin proangiogennych. W dniu wykonania badania bronchofibroskopowego pacjentom pobierano krew, którą odwirowywano w celu uzyskania surowicy i przechowywano w takich samych warunkach jak nadsącz BALF.

Oznaczenie stężenia badanych cytokin w surowicy i niezagęszczonym nadsączu pozyskanym z popłuczyn oskrzelikowo-pęcherzykowych wykonano metodą immunoenzymatyczną (ELISA) zestawem odczynnikowym firmy R&D (USA) dla VEGF i Milenia- DPC, Bad Nauheim, (Niemcy) dla IL-8 zgodnie z procedurą opracowaną przez producenta. Odczyty dokonano na czytniku mikropłytkowym ELx 808 firmy BIOTEC (USA) przy długości fali 450 nm.

Analizę statystyczną wykonano posługując się programem komputerowym Statistica TM (wersja 5.1, edycja '97). Do opisu poszczególnych grup zastosowano statystyki opisowe obejmujące średnią, błąd standardowy średniej (SEM) oraz liczbę przypadków (n). W celu wykazania znamienności statystycznej różnic między analizowanymi grupami o zmiennych spełniających kryteria rozkładu parametrycznego stosowano test *t*-Studenta dla prób niezależnych lub test *t*-Studenta dla par. W odniesieniu do grup o rozkładzie nieparametrycznym stosowano test Wilcoxa lub U Manna-Whitneya. Różnice między analizowanymi grupami uznawano za znamienne statystycznie, jeżeli wartość *p*, li-

**Tabela 1.** Charakterystyka pacjentów w zależności od badanej grupy

**Table 1.** Patients characteristic in accordance with evaluated group

Grupa (Group)	Parametr (Parameter)	n	Średni wiek – lata; zakres (Mean age – year; range)	Płeć <sup>1</sup> (Sex <sup>1</sup> )	Stadium <sup>2</sup> (Stage <sup>2</sup> )	Aktywność choroby <sup>3</sup> (Disease activity <sup>3</sup> )
Sarkoidoza (Sarcoidosis)	VEGF	25	37,8 ± 9 (20–63)	K – 11 M – 14	S1 – 14 S2 – 5 S3 – 6	AS – 13 NS – 12
	IL-8	18	34,3 ± 7 (20–52)	K – 8 M – 9	S1 – 9 S2 – 4 S3 – 5	AS – 9 NS – 9
Grupa kontrolna (Control group)	VEGF IL-8	8	44,1 ± 5 (31–52)	K – 6 M – 2	–	–

<sup>1</sup> K – kobiety, M – mężczyźni.

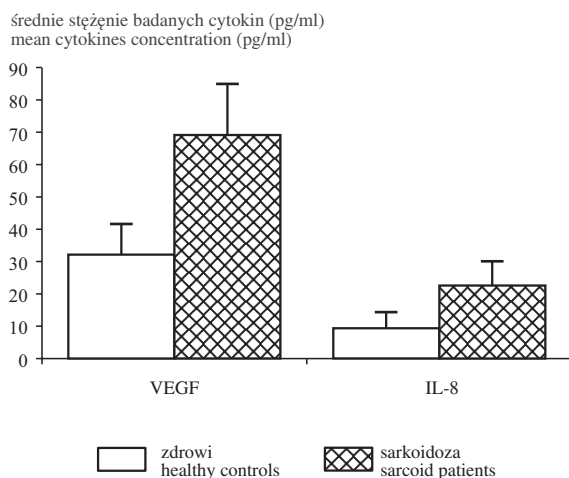
<sup>2</sup> S1, S2, S3 – stadia sarkoidozy wg Stiltzbacha [12].

<sup>3</sup> AS – aktywna, NS – nieaktywna sarkoidoza.

<sup>1</sup> K – women, M – men.

<sup>2</sup> S1, S2, S3 – stages of the disease according to Stiltzbach [12].

<sup>3</sup> AS – active sarcoidosis, NS – non active sarcoidosis.



**Ryc. 1.** Porównanie stężeń VEGF i IL-8 w BALF chorych na sarkoidozę i grupie kontrolnej

**Fig. 1.** Comparison of VEGF and IL-8 BALF concentration in sarcoid patients and control ones

czona w wyżej wymienionych testach, była  $< 0,05$ . Korelacje między analizowanymi danymi oceniono na podstawie współczynnika korelacji liniowej. Współczynniki korelacji liniowej uznawano za znamienne statystycznie dla wartości  $p < 0,05$ .

## Wyniki

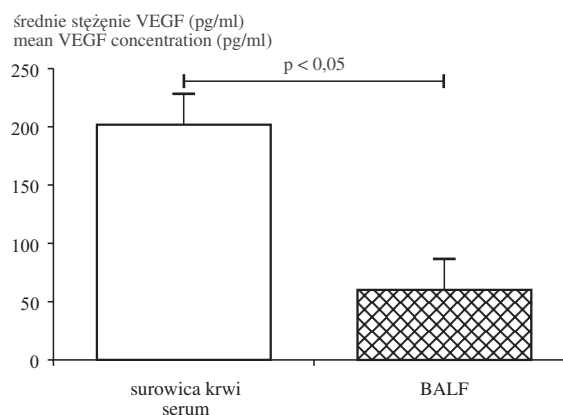
### VEGF

Średnie stężenie VEGF wykryte w surowicy chorych na sarkoidozę wynosiło  $208,28 \pm 34,2$  pg/ml (18,0–612,0) i było porównywalne do wartości w grupie kontrolnej, w której równe było  $181,8 \pm 46,9$  pg/ml (100,0–500,0). Stężenia VEGF w BALF były natomiast wyższe u chorych na sarkoidozę w porównaniu do osób grupy kontrolnej i wynosiły odpowiednio:  $69,12 \pm 15,8$  pg/ml (0,00–255,0) oraz  $32,13 \pm 9,5$  pg/ml (0,00–62,0); różnica ta nie osiągnęła jednak poziomu istotności statystycznej (ryc. 1). Średnie stężenie VEGF w grupie pacjentów z aktywną sarkoidozą było porównywalne do grupy chorych z nieaktywnym procesem. Nie stwierdzono korelacji stężenia VEGF z podstawowymi wskaźnikami klinicznymi chorych na sarkoidozę, tj. wiekiem, płcią, stadium zaawansowania, aktywnością procesu, odsetkiem limfocytów w BALF i pojemnością życiową.

W całej badanej grupie średnie stężenia VEGF w BALF były znacznie niższe od wykrytych w surowicy krwi:  $60,15 \pm 16,8$  pg/ml i  $201,8 \pm 26,48$  pg/ml,  $p < 0,05$  (ryc. 2).

### Interleukina 8

Średnie stężenie IL-8 w surowicy osób z grupy kontrolnej wynosiło  $3,6 \pm 2,4$  pg/ml (0,0–12,0)



**Ryc. 2.** Porównanie stężeń VEGF w BALF i surowicy w całej badanej grupie

**Fig. 2.** Comparison of VEGF in BALF and sera in all subjects

i nie różniło się znacząco od średniego stężenia tej cytokiny w grupie chorych na sarkoidozę, w której przybrało wartość  $2,4 \pm 3,8$  pg/ml (0,0–12,0). Podobnie jak w przypadku VEGF średnie stężenie IL-8 w BALF było wyższe w grupie pacjentów chorych na sarkoidozę aniżeli u osób zdrowych: odpowiednio  $22,56 \pm 7,5$  pg/ml (0,0–125) i  $9,33 \pm 5$  pg/ml (0,0–31,0) (ryc. 1). Różnica ta nie osiągnęła poziomu istotności statystycznej. W grupie chorych na sarkoidozę średnie stężenie IL-8 było wyższe w grupie osób ze schorzeniem aktywnym w porównaniu do nieaktywnej sarkoidozy (odpowiednio  $29,89 \pm 6,5$  pg/ml i  $15,22 \pm 7,6$  pg/ml); różnica ta nie była istotna statystycznie. Nie wykazano korelacji stężenia IL-8 z wiekiem, płcią, odsetkiem limfocytów w BALF i pojemnością życiową chorych na sarkoidozę.

### Analiza korelacji VEGF i IL-8 u indywidualnych chorych

Nie stwierdzono wzajemnych korelacji między stężeniami VEGF i IL-8 zarówno w BALF, jak i surowicy u wszystkich osób zakwalifikowanych do badania.

## Omówienie

VEGF, dimeryczne białko o masie 34–42 kDa, jest najlepiej poznany czynnikiem proangiogenym [14]. Ekspresję tego białka w prawidłowej tkance płucnej wykryto w pneumocytach typu II, komórkach Clara oskrzelików, komórkach mięśni gładkich oraz miofibroblastach [15]. Jak dotąd, niewiele wiadomo o roli tej cytokiny w patologii śródmiąższowych chorób płuc, choć najprawdo-



podobniej, podobnie jak w angiogenezie nowotworowej, VEGF pełni rolę głównego aktywatora nowotworzenia naczyń w tej grupie schorzeń. W ostatnich latach zwrócono uwagę, iż VEGF pełni również bezpośrednią rolę w podtrzymaniu przewlekłej reakcji zapalnej ze względu na aktywujące działanie tego białka w stosunku do monocytów [11, 15]. Niewykluczone, że białko to ma istotne znaczenie w utrzymaniu prawidłowej struktury pęcherzyków płucnych. Wykazano, że zablokowanie receptora dla VEGF może prowadzić do destrukcji ścian pęcherzyków płucnych i rozedmy [16].

Oznaczanie VEGF w BALF było przedmiotem zaledwie pojedynczych doniesień, a wyniki opublikowanych badań pozostają kontrowersyjne. Uzyskane przez autorów wyniki są zgodne z doniesieniem Ziory et al. [17], którzy wykazali wyższe stężenia VEGF w BALF chorych na sarkoidozę płuc w porównaniu do grupy zdrowych ochotników. Podobnie jak w naszych badaniach autorzy ci nie udowodnili korelacji między stężeniem VEGF w BALF a odsetkiem limfocytów w BALF ani wskaźnikami oceny czynnościowej płuc. Odmienne wyniki przedstawili Koyama et al. wykazując znacząco niższe stężenia VEGF w BALF chorych na sarkoidozę w porównaniu do osób zdrowych [18]. Cytowani autorzy przedstawili również analizę chromatograficzną ukierunkowaną na izoformy VEGF i dowiedli, iż jedyną formą wykrywalną w BALF jest rozpuszczalna VEGF 165.

Porównawcza analiza stężeń VEGF w surowicy chorych na sarkoidozę i osób zdrowych była przedmiotem zaledwie jednej analizy, której autorzy (podobnie jak w naszych badaniach) nie wykryli różnic w stężeniu tej cytokiny w badanych grupach [19]. Analizując stężenia VEGF w BALF cytowani badacze wykryli istnienie gradientu między BALF a surowicą, co jest zgodne z obserwowaną przez autorów zależnością. Wykazali ponadto, iż stężenie VEGF w BALF wykazuje zależność od wieku, nasze badania natomiast nie wykazały korelacji z wiekiem.

Interleukina 8 jest białkiem, którego rola w przewlekłym procesie zapalnym została dobrze udokumentowana. Niedawno zwrócono jednak

uwagę, iż cytokina ta może pełnić również rolę białka proangiogennego [20]. Podobnie jak w przypadku VEGF opublikowano niewiele badań dotyczących stężenia tej cytokiny w BALF chorych na sarkoidozę. Takizawa et al. [21] wykryli znacząco wyższe stężenia IL-8 w BALF chorych na schorzenia śródmiąższowe (w tym sarkoidozę) płuc aniżeli w grupie kontrolnej, co jest zgodne z wykazanym przez nas trendem. Wyższe stężenia IL-8 w BALF chorych na sarkoidozę w porównaniu do zdrowych niepalących osób wykazali również Girgis et al. [22], ale do badania zakwalifikowali jedynie chorych z aktywną postacią sarkoidozy. W naszym badaniu brali udział zarówno pacjenci z aktywną, jak i nieaktywną fazą choroby. Wykazano również, iż stężenie IL-8 w surowicy chorych na sarkoidozę może być użyteczne do monitorowania aktywności choroby [23]. Autorzy tej pracy zaobserwowali również tendencję do przyjmowania wyższych wartości stężenia IL-8 w BALF chorych z aktywną postacią sarkoidozy, analizowana przez nas grupa chorych była jednak mała, a stężenia IL-8 wykazywały znaczne zróżnicowanie u poszczególnych chorych.

Analiza czynników proangiogennych w płuczynach oskrzelowych jest związana z wieloma trudnościami. Należy zwrócić uwagę, iż podobnie jak w naszym materiale, w cytowanych doniesieniach liczba analizowanych przypadków była niewielka, ponadto procedura pobierania BALF i techniki jego opracowania różnią się w zależności od ośrodka. Na stężenie badanych cytokin w BALF mogą mieć również wpływ warunki miejscowe w tkance płucnej, przede wszystkim nasilona aktywność proteolityczna w ogniskach przewlekłego procesu zapalnego bądź miejscowa lub ogólnoustrojowa hipoksja. Powyższe czynniki powodują, iż nie określono dotąd jednoznacznie przydatności analizy markerów angiogenezy w ILD.

Wykazana tendencja do występowania wyższych stężeń VEGF i IL-8 w BALF chorych na sarkoidozę może świadczyć o zaangażowaniu tego procesu w patologię przewlekłych chorób ziarninowych w płucach. Określenie przydatności badanych markerów w aspekcie praktyki klinicznej wymaga dalszych badań.

## Piśmiennictwo

- [1] **American Thoracic Society:** Statement on Sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, 160, 736–755.
- [2] **British Thoracic Society. Standards of Care Committee:** The Diagnosis, Assessment and Treatment of Diffuse Parenchymal Lung Diseases In Adults. *Thorax* 1999, 54, Suppl 1, 1–28.
- [3] **Folkman J:** Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature Med* 1995, 17, 27–31.
- [4] **Walsh DA, Pearson CI:** Angiogenesis in the pathogenesis of inflammatory joint and lung diseases. *Arthritis Res* 2001, 3, 147–153.

- [5] Keane MP, Arenberg DA, Lynch JP, Whyte RI, Lannetoni MD, Burdic MD, Wilke CA, Morris SB, Glass MC, DiGiovine B, Kunkel RI, Strieter RM: The CXC chemokines, IL-8 and IP-10 regulate angiogenic activity in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Immunol* 1997, 157, 1437–1443.
- [6] Leibovich SJ, Polverini PJ, Shepard HM, Wiesman DM, Shively V, Nuseir N: Macrophage-induced angiogenesis is mediated by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Nature* 1987, 329, 630–632.
- [7] Mikami R, Sekiguchi M, Ryuzin Y, Kobayashi F, Hiraga Y, Shimada Y, Mochizuki J, Kobayashi T, Tamura S, Hosuda Y: Changes in the peripheral vasculature of various organs in patients with sarcoidosis – possible role of microangiopathy. *Heart Vessels* 1986, 2, 129–139.
- [8] Takemura T, Matsui Y, Oritsu M, Akiyama O, Hiraga Y, Omnichi M, Hirasawa M, Saiki S, Tamura S, Mochizuki J: Pulmonary vascular involvement in sarcoidosis: granulomatous angitis and microangiopathy in trans-bronchial lung biopsies. *Virchows Arch, A Pathol Anat Histopathol* 1991, 418, 361–368.
- [9] Weber J, Meyer KC, Banda P, Calhoun WJ, Auerbach R: Studies of bronchoalveolar lavage cells and fluids in pulmonary sarcoidosis II. Enhanced capacity of bronchoalveolar lavage fluids from patients with pulmonary sarcoidosis to induce cell movement *in vitro*. *Am Rev Resp Dis* 1989, 140, 1450–1454.
- [10] Zielonka TM, Demkow U, Kowalski J, Kuś J, Krychniak-Soszka A, Radzikowska E, Skopińska-Różewska E, Rowińska-Zakrzewska E: Ocena aktywności angiogennej surowic chorych na śródmiąższowe choroby płuc. *Pneum Alergol Pol* 1997, 65, 754–760.
- [11] Tolany E, Kuhen C, Voss B, Wiethage T, Muller KM: Expression and localization of vascular endothelial growth factor and its receptor flt in pulmonary sarcoidosis *Virchows Arch* 1998, 432, 61–65.
- [12] Stiltzbach L: Sarcoidosis: clinical features and management. *Med Clin North Am* 1967 51, 483–502.
- [13] Klech H, Hutter G: Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage (BAL): Report of European Society of Pneumology Task Group on BAL. *Eur Respir J* 1990, 3, 937–974.
- [14] Terman BI, Dougher-Vermazen M: Biological properties of VEGF/VPF Receptors. *Cancer Metastasis Rev* 1996, 15, 159–163.
- [15] Fehrenbach H, Kasper M, Haase M, Schuh D, Muller M: Differential immunolocalization of VEGF in rat and human adult lung and in experimental rat lung fibrosis: light, fluorescence and electron microscopy. *Anat Rec* 1999, 254, 61–73.
- [16] Kasahara Y, Tuder RM, Laimute Taraseviciene-Stewart L, Le Cras TD, Abman S, Hirth PK, Waltenberger J, Voelkel N: Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest* 2000, 106, 1311–1319.
- [17] Ziora D, Dworniczak S, Niepsuj G, Niepsuj K, Jarosz W, Sielska-Sytek E, Ciekalska K, Oklek K: Cytokiny proangiogenne (bFGF i VEGF) w BAL z dwóch różnych segmentów płuc wskazanych badaniem tomografii komputerowej o wysokiej rozdzielczości (HRCT) u chorych na sarkoidozę. *Pneumonol Alergol Pol* 2000, 68, 120–130.
- [18] Koyama S, Satto E, Haniuda M, Numanami H, Nagai S, Izumi T: Decreased level of vascular endothelial growth factor in bronchoalveolar lavage fluid of normal smokers and patients with pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002, 166, 382–385.
- [19] Meyer KC, Cardoni A, Xiang ZZ: Vascular endothelial growth factor in bronchoalveolar lavage from normal subjects and patients with diffuse parenchymal lung disease. *J Lab Clin Med* 2000, 135, 332–338.
- [20] Li A, Dubey S, Varney ML, Dave BJ, Singh RK: IL-8 directly enhanced endothelial cell survival, proliferation, and matrix metalloproteinases production and regulated angiogenesis. *J Immunol* 2003, 170, 3369–3376.
- [21] Takizawa H, Satoh M, Okazaki H, Matsuzaki G, Suzuki N, Ishii A, Suko M, Okudaira H, Morita Y, Ito K: Increased IL-6 and IL-8 in bronchoalveolar lavage fluids (BALF) from patients with sarcoidosis: correlation with the clinical parameters. *Clin Exp Immunol* 1997, 107, 175–181.
- [22] Girgis RE, Basha MA, Maliarik M, Popovich J Jr, Iannuzzi MC: Cytokines in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with active pulmonary sarcoidosis. *Am J Res Crit Care Med* 1995, 152, 71–75.
- [23] Yokoyama T, Kanda T, Kobayashi I, Suzuki T: Serum levels of interleukin-8 as a marker of disease activity in patients with chronic sarcoidosis. *J Med* 1995, 26, 209–219.

### Adres do korespondencji:

Irena Porębska  
Katedra i Klinika Chorób Płuc AM  
ul. Grabiszyńska 105  
53-439 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 2.02.2004 r.  
Po recenzji: 26.02.2004 r.  
Zaakceptowano do druku: 17.03.2004 r.

Received: 2.02.2004  
Revised: 26.02.2004  
Accepted: 17.03.2004