

(129)

# Rola przeciwciał przeciw pericytom ściany naczyniowej w rozwoju retinopatii cukrzycowej

## The role of anti-pericyte antibodies in the development of diabetic retinopathy

Joanna Adamiec, Jolanta Oficjalska-Mtyńczak

Z Katedry i Kliniki Okulistyki Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maria Hanna Niżankowska

**Summary:** Diabetic retinopathy is one of the most common devastating complications of diabetes. Pericyte loss, microaneurysms and acellular capillaries are characteristic for the diabetic retina. Researches have provided evidence that hyperglycaemia is one of the main factors driving the onset and progression of diabetic retinopathy. Although it has been shown that tight metabolic control has beneficial effects on the development and progression of this complication, the increase of blood glucose concentrations does not account for all the risk for development and progression to sight threatening retinopathy. A number of reports suggest that autoimmune mechanism play a role in diabetic microangiopathy (circulating antiendothelial cells autoantibodies, antiphospholipid antibodies, presence of immunoglobulins, lymphocytes and cytokines in diabetic retinal tissue). Diabetic subjects were also found to have autoantibodies to microvascular pericytes in their circulation. These results may contribute to understanding why retinopathy progresses in some patients, despite consistent reduction of blood sugar.

This publication tries to estimate the anti-pericyte autoantibodies role in progression of diabetic retinopathy.

**Słowa kluczowe:** pericyty, retinopatia cukrzycowa, autoprzeciwciała, kapilary.

**Key words:** pericytes, diabetic retinopathy, autoantibodies, capillaries.

Powikłania oczne w przebiegu cukrzycy wciąż pozostają główną przyczyną utraty wzroku wśród zawodowo aktywnej populacji przemysłowionych krajów świata. Po 20 latach choroby u 80% pacjentów z cukrzycą występuje retinopatia cukrzycowa, która stanowi najczęstsze powikłanie tego zaburzenia metabolicznego (1).

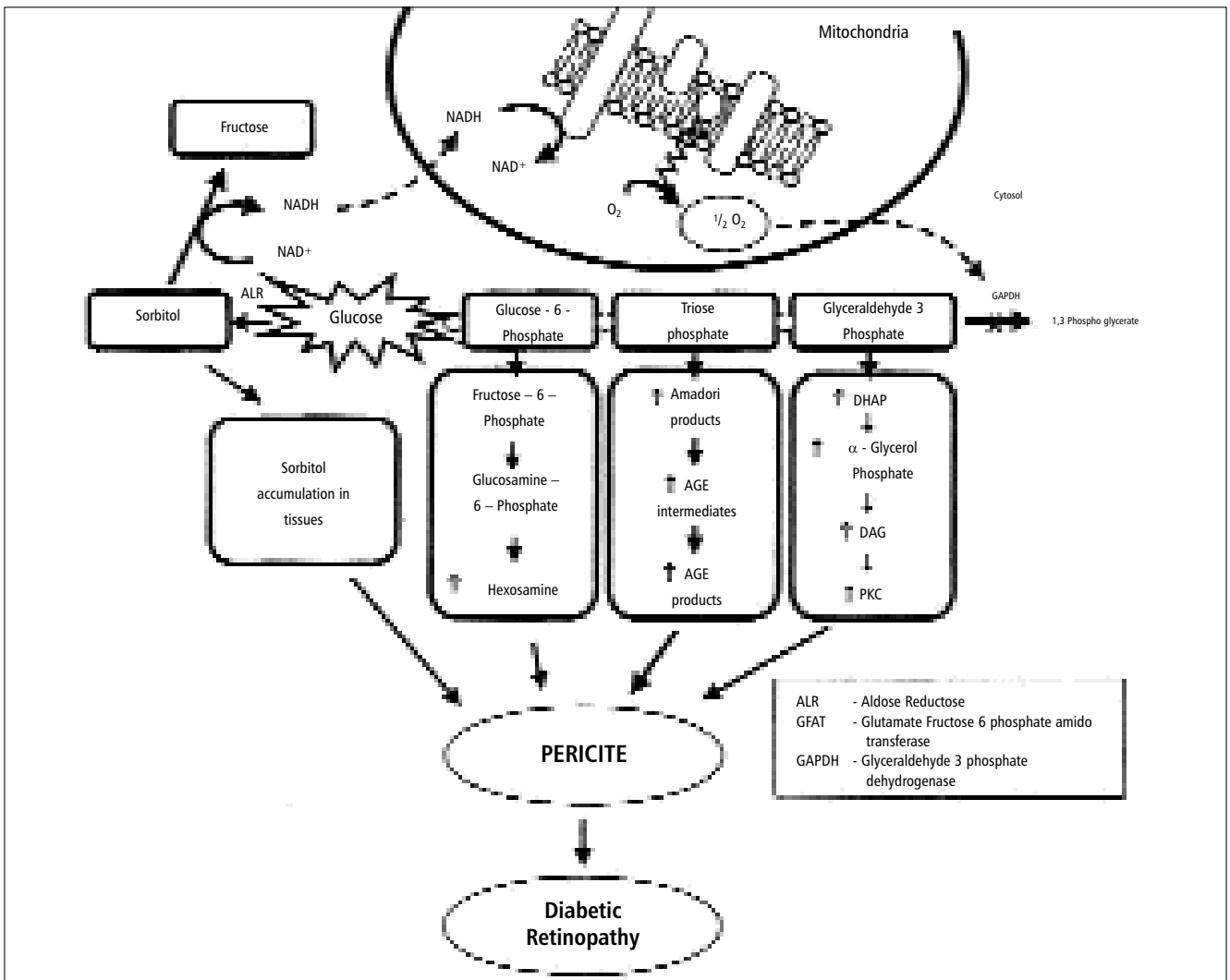
Początkowe etapy jej rozwoju wiążą się ze zmianami strukturalnymi drobnych naczyń siatkówki. W stadium nieproliferacyjnym potwierdzone badaniem oftalmoskopowym mikrotętniaki, krwotoczki śródsiatkówkowe, a także wysięki twarde są następstwem zaniku pericytów, pogrubienia błony podstawnej i przerwania bariery krew – siatkówka (1,3). Pericyty to komórki ścienne warunkujące stabilność ściany drobnych naczyń, a także kontrolujące proliferację śródbłonna. Ich utrata jest najwcześniejszą zmianą morfologiczną stwierdzaną w tej chorobie i skutkuje powstaniem kapilarów pozbawionych zewnętrznej, stabilizującej naczynie warstwy komórkowej. W efekcie opisanej przebudowy coraz wyraźniej dostrzegalny jest proces tworzenia się mikrotętniaków i redukcji grubości błony podstawnej (3).

Przyczyna wczesnej utraty pericytów pozostaje nadal niewyjaśniona. Istnieje szereg hipotetycznych mechanizmów uszkodzenia tych komórek. Jednym z najczęściej rozpatrywanych jest wzmożony metabolizm glukozy w szlaku polioliowym, co odbywa się ze współudziałem reduktazy aldozy oraz dehydrogenazy sorbitolu (1,3). Wynikiem tego procesu jest wewnątrzkomórkowa kumulacja czynników uszkodzających, w tym głównie sorbitolu. Opisany mechanizm wyda-

je się odgrywać istotną rolę w początkowym okresie rozwoju powikłań. Doświadczalne zastosowanie inhibitora reduktazy aldozy hamuje rozwój mikrotętniaków w obszarze mikrokrążenia (1).

Kolejna teoria oparta jest na stwierdzeniu w komórkach podwyższonego stężenia zaawansowanych produktów glikacji (AGEs), powstających w następstwie biochemicznych reakcji zarówno zewnątrz-, jak i wewnątrzkomórkowych (1). Autooksydacja glukozy do wewnątrzkomórkowych dwuwęglanów (glioksal, metyloglioksal), a następnie reakcja tych produktów z grupami aminowymi białek zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych skutkuje powstaniem takich produktów, jak pyralina, pentosidine i innych. Oddziałują one na DNA, lipidy i białka, powodując klasyczne zaburzenia molekularne ich metabolizmu. Opisany mechanizm rozwoju powikłań cukrzycy jest charakterystyczny dla tkanek bogatych w takie białka, jak kolagen, elastyna i mielina, w których transport glukozy do wnętrza komórki jest tylko w niewielkim stopniu zależny od insuliny. Po zastosowaniu odpowiednich inhibitorów enzymów biorących udział w opisywanych procesach (aminoguanidyna, OPB 9195) wykazano zahamowanie rozwoju analizowanych zaburzeń, charakterystycznych dla cukrzycy (2). Stąd też naukowcy mają ogromne nadzieje na wykorzystanie wyników prowadzonych badań eksperymentalnych w praktyce klinicznej (ryc. 1).

W rozwoju powikłań naczyniowych cukrzycy niekwestionowaną rolę odgrywa również aktywacja izoformy beta-białkowej kinazy C



Ryc. 1. Biochemiczne mechanizmy uszkodzenia pericytów w warunkach hiperglikemii (zmodyfikowane, za Balasubramanyamem i wsp., 1).

Fig. 1. Hyperglycemia-driven biochemical alterations leading to pericytes damage (modified from Balasubramanyam et al., 1).

(PKC). Ten proces jest aktywnie zaangażowany w patologię naczyń siatkówki u chorych na cukrzycę. Eksperymentalnie zastosowany inhibitor PKC o symbolu LY333531 zapewniał u badanych zwierząt prawidłowy przepływ krwi w naczyniach siatkówki, a w przypadkach już istniejących zmian ich regresję (1). Obecnie LY333531 poddawany jest szczegółowym badaniom klinicznym i w sytuacji potwierdzenia jego skuteczności u ludzi może się okazać ważnym preparatem w profilaktyce i terapii mikroangiopatii cukrzycowej.

Głównymi czynnikami inicjującymi zmiany obserwowane w przebiegu proliferacyjnej retinopatii cukrzycowej są hiperglikemia oraz następowe zmiany hemodynamiczne. Jednak badania przeprowadzone w ostatnich latach bardzo wyraźnie wskazują na udział wielu innych zaburzeń w powstawaniu analizowanych powikłań.

Z punktu widzenia klinicyści doskonale wiadomo, że poszczególne stadia mikroangiopatii cukrzycowej przechodzą płynnie w coraz bardziej zaawansowane etapy. Nawet potwierdzony badaniem oftalmoskopowym brak jakichkolwiek zmian charakterystycznych dla mikroangiopatii siatkówki wcale nie wyklucza nieobecności wczesnych znamion histopatologicznego uszkodzenia ścian naczyń oraz nieprawidłowych parametrów hemodynamicznych. Oprócz poszerzenia kapilarów, redukcji grubości błony podstawnej, zaburzeń bariery krew – siatkówka u tych chorych zachodzi proces

wybiórczej utraty pericytów (1,3,4,5). Fizjologicznie stosunek ilościowy komórek śródbłonna do tych komórek wynosi 1:1, natomiast w cukrzycy zmienia się na 4:1. Pericyty odgrywają więc główną rolę w początkowym okresie rozwoju zmian cukrzycowych gałki ocznej. Wykorzystując modele zwierzęce, stwierdzono inicjację rozwoju zmian proliferacyjnych, gdy liczba pericytów wynosiła < 50% stanu prawidłowego (1). Stąd tak istotne jest poznanie patomechanizmów obumierania tych komórek. Obecnie za najważniejszy mechanizm uszkodzenia opisywanych komórek uważa się udział szlaku biochemicznego inicjowanego przez AGEs i wiązania produktów glikacji białek do specyficznego receptora na powierzchni pericytów (modele zwierzęce). Wykazano również, że AGEs mają aktywność angiogeniczną, działając bezpośrednio na komórki śródbłonna kapilarów siatkówki. Pozostają jednym z głównych mediatorów nowotwórstwa naczyniowego w cukrzycy (1,3).

Niezależnie od siebie dwie grupy badawcze z Japonii (Yamagishi i wsp. oraz Ogata i wsp.) ustaliły, że PEDF (pigment-epithelium-derived factor) ma stanowić zasadniczy czynnik chroniący pericyty przed ich uszkodzeniem spowodowanym wpływem AGEs. Wykazano bowiem, że pericyty dysponują specyficznym białkiem błonowym wiążącym PEDF, potwierdzono także doświadczalnie zdolność opisywanego czynnika do hamowania patologicznego działania AGEs na te komórki (6,7).

Kontynuowane są badania, których celem jest wykluczenie bądź też potwierdzenie takich hipotez, jak: indukowana hiperglikemią apoptoza, nieenzymatyczna „glikacja” białek, kumulacja alditolu w obumieraniu pericytów u chorych na cukrzycę.

Udokumentowano obecność immunoglobulin (w tym przeciwciał przeciw komórkom śródbłonna, antyfosfolipidowych), limfocytów i cytokin w strukturach siatkówki pacjentów z cukrzycą, co potwierdza wyżej wymienioną teorię (4). W przeprowadzonych badaniach immunohistochemicznych błon nasiatkówkowych stwierdzono również obecność limfocytów T i B, makrofagów, cytokin IL1 $\alpha$  i IL2 (4). Równocześnie udowodniono, że limfocyty uzyskane z krwi obwodowej pacjentów z proliferacyjną retinopatią cukrzycową są bardziej angiogenne od tych wyizolowanych u chorych z początkowymi zmianami cukrzycowymi bądź osób zdrowych. Wszystkie te dane wskazują na aktywację immunologicznych czynników prowadzących do rozwoju retinopatii cukrzycowej.

Nie można również pominąć znaczącej roli czynników genetycznych w rozwoju opisywanego zaburzenia metabolicznego. W wielu publikacjach autorzy sygnalizują fakt wyraźnej skłonności do szybszego rozwoju retinopatii cukrzycowej u pacjentów z określonym haplotypem, m. in. HLA B15 DR4 (4). Także w badaniach bliźniąt monozygotycznych wykazano większą skłonność do rodzinnego występowania tej choroby i jej powikłań (4).

Hipotezę udziału autoimmunologicznego komponentu w mechanizmie rozwoju powikłań ocznych w przebiegu cukrzycy potwierdzają wyniki badań uzyskane przez zespół A. Mohameda (4). We krwi obwodowej pacjentów z cukrzycą stwierdzono obecność przeciwciał przeciw pericytom. Najwyższe stężenia zaobserwowano po 6-10 latach trwania choroby, co bezpośrednio koreluje z inicjacją procesów patobiologicznych odpowiedzialnych za powstanie retinopatii proliferacyjnej. Równocześnie obecność tych przeciwciał stwierdza się u zdrowych krewnych I stopnia pacjentów z cukrzycą typu 1. U wszystkich tych osób, pomimo początkowo prawidłowych parametrów biochemicznych gospodarki węglowodanowej, po 1-9 latach obserwacji wystąpiła cukrzyca typu 1. Powyższe spostrzeżenia pozwalają na wysnucie hipotezy, że proces prowadzący do rozwoju retinopatii cukrzycowej może być zainicjowany jeszcze przed wykształceniem się pełnego obrazu chorobowego, a obecność opisywanych przeciwciał jest następstwem okresowego wzrostu stężenia glukozy w surowicy krwi.

Na uwagę zasługują również badania Nayaka i wsp. (5). Obecność przeciwciał przeciw pericytom autorzy wykazali u około 60% badanych chorych na cukrzycę typu 1. Stąd wysnuto wniosek, że serokonwersja może być uważana za marker zmian prowadzących do rozwoju retinopatii cukrzycowej. Należy zaznaczyć, że pericyty poprzez miejscowe oddziaływanie parakryne oraz bezpośredni kontakt międzykomórkowy hamują proliferację komórek śródbłonna. Zatem zaburzenia ich funkcjonowania z następującą całkowitą ich

utrata poprzedzają patologiczną neowaskularyzację. Obecność przeciwciał przeciw pericytom jest następstwem ekspresji niezidentyfikowanych jak dotąd antygenów na powierzchni ich zaktywowanych form. W przypadku cukrzycy typu 2. najwyższe stężenia opisywanych cząsteczek obserwowano w pierwszych pięciu latach trwania choroby (5). Jednakże należy pamiętać, że cukrzyca typu 2. jest najczęściej rozpoznawana dopiero po kilku latach utrzymujących się zaburzeń metabolicznych choroby. Stąd też opisywany okres największego natężenia syntezy przeciwciał przeciw pericytom może być błędny i raczej jest zbliżony do opisywanego w typie 1. cukrzycy.

Mechanizm powstawania i rozwoju powikłań naczyniowych cukrzycy jest bardzo złożony i wciąż nie w pełni poznany. Niemniej wyniki badań eksperymentalnych i prób klinicznych wydają się obiecujące na obecnym etapie zaawansowania. Jednak nadal w zapobieganiu powikłaniom naczyniowym niezwykle istotne pozostają wczesna diagnostyka oraz skuteczne leczenie analizowanego zaburzenia metabolicznego.

#### PIŚMIENNICTWO:

1. Balasubramanyam M., Rema M., Premanand C.: *Biochemical and molecular mechanisms of diabetic retinopathy*. *Curr. Science*, 2002, 83 (12), 1506-1514.
2. Du Y., Smith M., Miller C., Kern T. S.: *Diabetes induced nitrate stress in the retina and correction by aminoguanidine*. *J. Neurochem.*, 2002, 80 (5), 771-779.
3. Hammes H. P., Lin J., Renner O., Shani M., Lundqvist A., Bestholz Ch., Brownlee M., Deutsch U.: *Pericytes and the pathogenesis of diabetic retinopathy*. *Diabetes*, 2002, 51 (10), 3107-3112.
4. Mohamed A., Nayak R. C.: *Circulating antipericyte autoantibodies in diabetic retinopathy*. *Retina*, 1999, 19 (5), 390-400.
5. Nayak R. C., Agardh C. D., Kwok M., Stjernquist H., Farthing-Nayak P. J., Agardh E.: *Circulating anti-pericyte autoantibodies are present in type 2 diabetic patients and are associated with non-proliferative retinopathy*. *Diabetologia*, 2003, 46, 511-513.
6. Ogata N., Nishikawa M., Nishimura T., Mitsuma Y., Matsumara M.: *Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy*. *Am. J. Ophthalmol.*, 2002, 134, 348-353.
7. Yamagishi S., Inagaki Y., Amano S., Okamoto T., Takeuchi M., Makita Z.: *Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal pericytes from advanced glycation end product-induced injury through its antioxidative properties*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002, 296, 877.

Praca wpłynęła do Redakcji 1.03.2004 r. (589).

Zakwalifikowano do druku 4.05.2005 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
lek. med. Joanna Adamiec  
Katedra i Klinika Okulistyki AM we Wrocławiu  
ul. Chałubińskiego 2a  
50-368 Wrocław