

Rola endostatyny w patogenezie procesu łuszczycowego

Endostatin in pathogenesis of psoriatic process

ANNA ZALEWSKA, ANNA SYSA-JĘDRZEJOWSKA, JOANNA NARBUTT

Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi,
kierownik Katedry i Kliniki prof. dr hab. med. Anna Sysa-Jędrzejowska

Abstract

Psoriasis is characterized by enhanced angiogenesis, which is reflected by increased levels, both systemically and lesionally, of pro-angiogenic factors and decreased levels of inhibitors of this process. On the other hand, endostatin is one of the naturally occurring inhibitors of neovascularization. The aim of the study was to evaluate endostatin plasma levels in different activity phases in psoriasis vulgaris patients.

The study consisted of 99 in-patients with active psoriasis treated with four different methods: anthralin, Ingram method, Goeckerman method and methorexate. The control group comprised 40 healthy volunteers. Severity of the disease was evaluated by PASI score. Blood samples were collected before treatment and 3 weeks thereafter. Plasma levels of endostatin were measured by ELISA.

Endostatin levels were significantly elevated in psoriatic patients irrespective of the treatment employed in comparison to the control group ($p < 0.001$). The levels of endostatin were significantly higher after treatment when compared to baseline results, independently from the applied therapy ($p < 0.001$). The obtained results demonstrate some disturbances in endostatin levels in psoriatic patients.

Key words: endostatin, angiogenesis, psoriasis vulgaris, treatment.

Streszczenie

Łuszczyca charakteryzuje się wzmożoną angiogenezą, której odzwierciedleniem wydaje się być wzrost stężenia czynników stymulujących i obniżenie czynników hamujących ten proces zarówno w surowicy, jak i tkankach. Endostatyna jest naturalnie występującym czynnikiem hamującym angiogenezę. Celem pracy była ocena stężenia endostatyny w różnych fazach aktywności łuszczyicy zwykłej.

Do badań zakwalifikowano 99 chorych w aktywnej fazie łuszczyicy zwykłej, u których stosowano jedną z czterech metod leczenia: cignolinę, metodę Ingrama, metodę Goeckermana lub metotreksat. Grupę kontrolną stanowiło 40 zdrowych ochotników. Nasilenie procesu chorobowego określano za pomocą indeksu PASI. Krew pobierano przed włączeniem leczenia oraz po 3 tyg. jego stosowania. Ocenę stężenia endostatyny w osoczu przeprowadzono przy użyciu metody ELISA.

Wykazano, że stężenie endostatyny było znacząco wyższe u chorych w stosunku do grupy kontrolnej ($p < 0,001$), niezależnie od nasilenia zmian skórnych. Ponadto stwierdzono istotny statystycznie ($p < 0,001$) wzrost stężenia endostatyny w osoczu chorych po 3 tyg. leczenia, niezależnie od stosowanej metody. Uzyskane wyniki wskazują na wzrost aktywności procesów antyangiogennych w trakcie ustępowania zmian łuszczycowych.

Słowa kluczowe: endostatyna, angiogeneza, łuszczyca zwykła, leczenie.

(PDiA 2005; XXII, 3: 119–123)

Wprowadzenie

Łuszczyca jest przewlekłą, zapalną chorobą skóry, która charakteryzuje się przyspieszonym, niepełnym rogowaceniem keratynocytów oraz naciekami z leukocytów w naskórku i skórze właściwej [1, 2]. Początkowo za kluczowy element w rozwoju zmian łuszczycowych uważa-

no nieprawidłową funkcję keratynocytów, jednakże z biegiem lat okazało się, że podstawowe znaczenie w powstawaniu zmian łuszczycowych mają zaburzenia dotyczące limfocytów [3, 4]. Istnieją też dowody na udział zaburzeń naczyniowych w rozwoju choroby [5, 6]. Badania histopatologiczne wykazały, że pierwszym objawem w powstawaniu grudki łuszczycowej jest wzmożony przepływ

Adres do korespondencji: dr med. Anna Zalewska, Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź, tel. +48 42 686 79 81, faks +48 42 688 45 65, e-mail: anuczalewska@hotmail.com

naczyniowy przez poszerzone naczynia krwionośne skóry [7, 8]. Patologiczne zmiany naczyniowe mogą się utrzymywać nawet po ustąpieniu zmian klinicznych [8–10]. Natomiast w surowicy oraz skórze chorych występują podwyższone stężenia śródbłonkowego czynnika stymulującego angiogenezę (ESAF) oraz naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF), które stymulują powstawanie nowych naczyń [11–13].

Endostatyna jest niekolagenową domeną kolagenu XVIII o ciężarze cząsteczkowym 20 kD i wykazuje działanie antyangiogenne [14–16]. Fibroblasty i hepatocyty syntetyzują kolagen typu XVIII. Po jego uwolnieniu z komórek pod wpływem katepsyny L odcinany jest fragment proteolityczny zwany endostatyną. Białko to jest łatwo wykrywane w krążeniu i moczu [17, 18]. Wykazano, że endostatyna swoiście hamuje proliferację komórek śródbłonka oraz ich migrację stymulowaną przez VEGF, a ponadto zmniejsza aktywność formy proenzymatycznej metaloproteinazy 2 i katalityczne zdolności błonowych metaloproteinaz typu 1 i 2 [16, 19]. W wyniku działania endostatyny zmniejsza się napływ komórek śródbłonka do nowo tworzonej błony podstawnej oraz dochodzi do indukcji apoptozy [20, 21].

Cel pracy

Celem pracy była ocena stężenia endostatyny w osoczu chorych w różnych fazach aktywności łuszczycy zwykłej.

Materiał i metody

Do badań zakwalifikowano 99 pacjentów z łuszczycą zwykłą (30 kobiet, 69 mężczyzn w wieku 19–77 lat), będących w aktywnej fazie choroby, czego wyrazem było ostatnie zaostrzenie choroby trwające od 2 do 8 tyg. przed badaniem. U chorych zastosowano jedną z czterech metod leczenia, tj. cignolinę (10 chorych), metodę Ingrama (cignolina z UVB-NB, 58 chorych), metodę Goeckermana (prodermina z UVB-NB, 5 chorych) oraz metotreksat (26 chorych). Nasilenie procesu chorobowego oceniano w dniach pobierania krwi od chorych, stosując indeks

PASI (*Psoriasis Area and Severity Index*) [22]. Szczegółowe dane dotyczące nasilenia zmian przedstawia tab. 1. Grupę kontrolną stanowiło 40 zdrowych ochotników (17 kobiet, 23 mężczyzn w wieku 22–69 lat). Krew żylną do badań w ilości 5 ml pobierano przed rozpoczęciem leczenia szpitalnego oraz po 3 tyg. jego stosowania. Pobraną krew odwirowywano, a osocze przechowywano w temp. -70°C do momentu wykonania wszystkich oznaczeń. Do oceny stężenia endostatyny w osoczu zastosowano komercyjnie dostępne zestawy ELISA (R&D Systems Inc, Minneapolis, USA) zgodnie z instrukcją producenta. Minimalny poziom wykrycia endostatyny wynosił 1,953 ng/ml.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetyki UM w Łodzi.

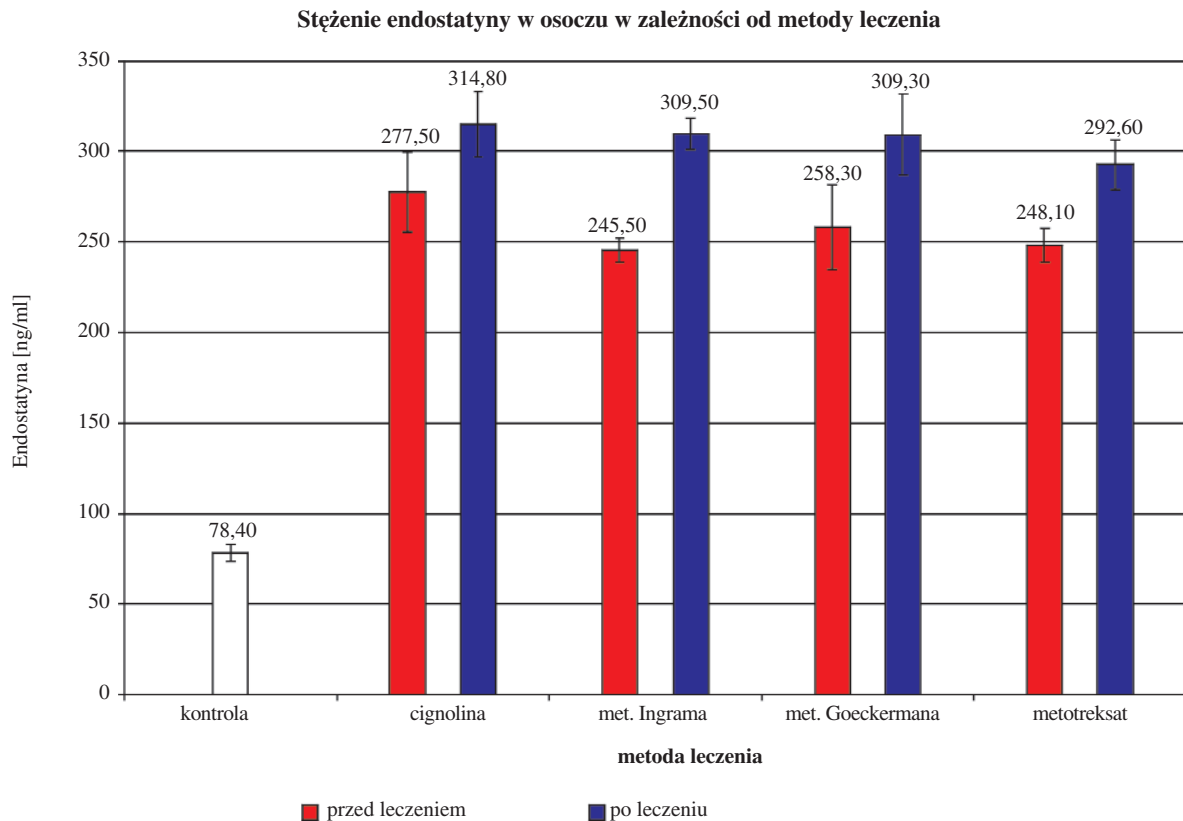
W obliczeniach statystycznych wykorzystano średnią, medianę, minimum, maksimum oraz odchylenie standardowe (SD), zastosowano nieparametryczny test Wilcoxa dla par, Manna i Whitneya dla zmiennych niezależnych, oraz test t-Studenta dla współczynnika korelacji liniowej. Za istotność statystyczną przyjęto $p < 0,05$.

Wyniki badań

Wykazano statystycznie istotną różnicę ($p < 0,001$) pomiędzy stężeniem endostatyny u chorych na łuszczycę zwykłą przed rozpoczęciem leczenia szpitalnego ($249,7 \pm 50,6$ ng/ml) a grupą kontrolną ($78,4 \pm 29,6$ ng/ml). Ponadto stwierdzono wyższe stężenia endostatyny w osoczu chorych po 3 tyg. leczenia w stosunku do grupy kontrolnej (średnia \pm SD), które wynosiły odpowiednio: $305,6 \pm 62,1$ ng/ml vs $78,4 \pm 29,6$ ng/ml ($p < 0,001$). Szczegółowe dane przedstawiają ryc. 1. oraz tab. 2. Nie wykazano istotnej statystycznie zależności pomiędzy stężeniem endostatyny w osoczu a nasileniem procesu chorobowego ($p > 0,05$). Ponadto stwierdzono istotny statystycznie ($p < 0,001$) wzrost stężenia endostatyny w osoczu chorych po leczeniu, niezależnie od stosowanej metody (dla chorych leczonych cignoliną: $277,5 \pm 65,9$ ng/ml vs $314,8 \pm 53,4$ ng/ml; metodą Ingrama: $245,5 \pm 50,7$ ng/ml vs $309,5 \pm 64,8$ ng/ml; metodą Goeckermana: $258,3 \pm 46,6$ ng/ml vs $309,3 \pm 45,4$ ng/ml; metotreksatem: $248,1 \pm 48,7$ ng/ml vs $292,6 \pm 67,9$ ng/ml). Szczegółowe dane przedstawia tab. 2.

Tab. 1. Porównanie nasilenia stanu chorobowego wyrażonego jako indeks PASI w zależności od zastosowanego leczenia przed jego włączeniem i po 3 tyg. stosowania; różnica istotna statystycznie na poziomie $p < 0,001$ SD – odchylenie standardowe

	Metoda leczenia			
	cignolina	metoda Ingrama	metoda Goeckermana	metotreksat
PASI przed leczeniem (średnia \pm SD)	13,4 \pm 3,1	15,3 \pm 5,1	16,6 \pm 5,3	20,7 \pm 5,8
PASI po 3 tyg. leczenia (średnia \pm SD)	7,9 \pm 2,7	8,4 \pm 3,6	8,3 \pm 6,3	11,7 \pm 4,8



Ryc. 1. Stężenie endostatyny w osoczu chorych na łuszczykę zwykłą w zależności od stosowanego leczenia w porównaniu z grupą kontrolną

Omówienie wyników

Wykazanie zaburzeń angiogenezy w łuszczyce spowodowało poszerzenie zakresu badań klinicznych nad zastosowaniem leków, mających na celu normalizację tego procesu [23–26]. Wiele prac dotyczy oceny stęże-

nia angiogenego czynnika VEGF zarówno w surowicy, jak i skórze chorych na łuszczykę [2, 11–13, 27]. Nielsen i wsp. stwierdzili istotne statystycznie podwyższenie stężenia VEGF w osoczu u chorych na łuszczykę w porównaniu ze zdrowymi. Stężenie tego czynnika

Tab. 2. Porównanie wartości przeciętnych i miar rozrzutu stężenia endostatyny w badanych grupach chorych w stosunku do grupy kontrolnej

	Przed leczeniem				Po 3 tyg. leczenia				Grupa kontrolna
	cignolina	metoda Ingrama	metoda Goeckermana	metotreksat	cignolina	metoda Ingrama	metoda Goeckermana	metotreksat	
liczba chorych	10	58	5	26	10	58	5	26	40
średnia (ng/ml)	277,5	245,5	258,3	248,1	314,8	309,5	309,3	292,6	78,4
Me (ng/ml)	298,1	255,0	236,8	242,6	293,0	302,0	298,3	298,5	77,6
min. (ng/ml)	155,2	114,2	219,5	118,5	249,6	152,4	256,4	138,8	18,0
maks. (ng/ml)	358,6	365,2	326,4	321,7	397,5	434,2	376,5	426,5	158,5
SD (ng/ml)	65,9	50,7	46,6	48,7	53,4	64,8	45,4	67,9	29,6

Legenda: Me – mediana, min. – najniższa wartość, maks. – wartość najwyższa, SD – odchylenie standardowe

ulegało stopniowemu obniżaniu w trakcie prowadzonej terapii [27]. Wykazano także statystycznie istotną dodatnią korelację pomiędzy obniżeniem stężenia VEGF a indeksem PASI [11, 27, 28]. Jednakże Young i wsp. nie stwierdzili takiej zależności [25].

Do chwili obecnej nie prowadzono prac dotyczących określenia stężenia endostatyny u chorych na łuszczycę. We wstępnych badaniach własnych przeprowadzonych w grupie 16 chorych stwierdzono podwyższone stężenia tego białka w osoczu w stosunku do grupy kontrolnej [29].

Udowodniono rolę endostatyny w chorobach tkanki łącznej, jednakże badania dotyczące związku pomiędzy jej stężeniami a aktywnością tych chorób są sprzeczne [4, 21, 30]. W twardzinie układowej obserwowano podwyższone poziomy endostatyny w stosunku do grupy kontrolnej [31, 32]. Także we wstępnych badaniach własnych przeprowadzonych wśród chorych na twardzinę układową wykazano zależność pomiędzy stężeniami VEGF i endostatyny. Prace własne wykazały, że niższymi stężeniami VEGF towarzyszyły wyższe poziomy endostatyny w surowicy badanych pacjentów [32].

W prowadzonych badaniach własnych pomimo licznej grupy pacjentów nie stwierdzono zależności pomiędzy stężeniem endostatyny w osoczu a indeksem PASI. Dane z piśmiennictwa podkreślają istnienie takich korelacji u pacjentów z erythrodermią łuszczycową [11, 27, 28]. W badanej grupie pacjentów łuszczycy miała umiarkowane i średnie nasilenie. Obserwowany wzrost stężenia endostatyny u chorych w trakcie terapii wydaje się być spowodowany spadkiem czynników proangiogennych i wzrostem antyangiogennych.

Wielu autorów uważa, że wraz z wprowadzaniem do leczenia łuszczycy terapii biologicznych, klasyczne metody terapeutyczne zostaną zarzucone, ze względu na ich niewielki wpływ na procesy ogólnoustrojowe w tej chorobie [1, 3]. Obserwacje własne jednakże wskazują na wpływ klasycznych metod terapii łuszczycy na stężenia endostatyny w osoczu.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że uzyskane wyniki wskazują na istnienie zaburzeń w stężeniu endostatyny u chorych na łuszczycę zwykłą. Podwyższone stężenia tego białka w osoczu chorych obserwowane w trakcie leczenia mogą być wyrazem uruchomienia układowych mechanizmów kompensacyjnych w stosunku do wzmożonego procesu angiogenezy, charakterystycznego dla łuszczycy zwykłej.

Praca finansowana z grantu KBN nr 4PO5A 079 18 oraz statutowej pracy badawczej UM w Łodzi nr 503-119-1.

Piśmiennictwo

1. van de Kerkhof P: Textbook of psoriasis. Blackwell Publishing Ltd. Malden, Oxford, Carlton, 2003.
2. Velasco P, Lange-Asschenfeldt B: Dermatological aspects of angiogenesis. *Br J Dermatol* 2002; 147: 841-52.
3. Schleyer V, Landthaler M, Szeimies RM: Novel pharmacological approaches in the treatment of psoriasis. *JEADV* 2005; 19: 1-20.
4. Carmeliet P, Jain RK: Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-57.
5. Klemp P, Staberg B: Cutaneous blood flow in psoriasis. *J Invest Dermatol* 1983, 81: 503-6.
6. Barton SP, Abdullah MS, Marks R: Quantification of microvascular changes in the skin in patients with psoriasis. *Br J Dermatol* 1992; 126: 569-74.
7. Hern S, Stanton AWB, Mellor R, et al.: Control of cutaneous blood vessels in psoriatic plaques. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 127-32.
8. De Angelis R, Bugatti L, Del Medico P, et al.: Videocapillaroscopic findings in the microcirculation of the psoriatic plaque. *Dermatology* 2002; 204: 236-9.
9. Braverman IM, Yen A: Ultrastructure of the capillary loops in the dermal papillae of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1977; 68: 53-60.
10. Braverman IM, Sibley J: Role of microcirculation in the treatment and pathogenesis of psoriasis. *J Invest Dermatol* 1982; 78: 12-7.
11. Bhushan M, McLaughlin B, Weiss JB, et al.: Levels of endothelial cell stimulating angiogenesis factor and vascular endothelial growth factor are elevated in psoriasis. *Br J Dermatol* 1999; 141: 1054-60.
12. Detmar M, Brown LF, Claffey KP, et al.: Overexpression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor and its receptors in psoriasis. *J Exp Med* 1994; 180: 1141-6.
13. Detmar M: The role of VEGF and thrombospondins in skin angiogenesis. *J Dermatol Sci* 2000; 24 (suppl 1): S78-84.
14. Szary J, Szala S: Endostatyna w terapii nowotworów. *J Oncol* 2002; 52: 159-64.
15. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al.: Endostatin an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell* 1997; 88: 277-85.
16. Sasaki T, Fukai N, Mann K, et al.: Structure, function and tissue forms of the C-terminal globular domain of collagen XVIII containing the angiogenesis inhibitor endostatin. *EMBO J* 1998; 17: 4249-56.
17. Felbor U, Dreier L, Bryant RA, et al.: Secreted cathepsin L generates endostatin from collagen XVIII. *EMBO J* 2000; 19: 1187-94.
18. Zatterstrom UK, Felbor U, Fukai N, et al.: Collagen XVIII/endostatin structure and functional role in angiogenesis. *Cell Structure and Function* 2000; 25: 97-101.
19. Kim YM, Jang JW, Lee OH, et al.: Endostatin inhibits endothelial and tumor cellular invasion by blocking the activation and catalytic activity of matrix metalloproteinase 2. *Cancer Res* 2000; 60: 5410-3.
20. Dixelius J, Larsson H, Sasaki T, et al.: Endostatin-induced tyrosine kinase signaling through the Shb adaptor protein regulates endothelial cell apoptosis. *Blood* 2000; 95: 3403-11.
21. Dhanabal M, Ramchandran R, Waterman MJ, et al.: Endostatin induces endothelial cell apoptosis. *J Biol Chem* 1999; 274: 11721-6.
22. Fredriksson T, Petterson U: Severe psoriasis – oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 1978; 157: 238-44.
23. White PJ, Atley LM, Wraight CJ: Antisense oligonucleotide treatment for psoriasis. *Expert Opin Biol Ther* 2004; 4: 75-81.

24. Detmar M: Evidence for vascular endothelial growth factor (VEGF) as a modifier gene in psoriasis. *J Invest Dermatol* 2004; 122: xiv-xv.
25. Young HS, Summers AM, Bhushan M, et al.: Single-nucleotide polymorphisms of vascular endothelial growth factor in psoriasis of early onset. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 209-15.
26. Kieran MW, Billett AM: Antiangiogenesis therapy. *Hem Oncol Clin North Am* 2001; 15: 835-51.
27. Nielsen HJ, Christensen IJ, Svendsen MN, et al.: Elevated plasma levels of vascular endothelial growth factor and plasminogen activator inhibitor-1 decrease during improvement of psoriasis. *Inflamm Res* 2002; 51: 563-7.
28. Creamer D, Allen MH, Jaggard R, et al.: Mediation of systemic vascular hyperpermeability in severe psoriasis by circulating vascular endothelial growth factor. *Arch Dermatol* 2002; 138: 791-6.
29. Zalewska A, Sysa-Jędrzejowska A, Dziańkowska-Bartkowiak B: Ocena stężenia endostatyny w osoczu chorych na łuszczykę zwykłą. *Przeł Dermatol* 2004; 91: 481-4.
30. Robak E, Woźniacka A, Sysa-Jędrzejowska A, et al.: Circulating angiogenesis inhibitor endostatin and positive endothelial growth regulators in patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2002; 11: 348-55.
31. Hebbar M, Peyrat JP, Homez L, et al.: Increased concentrations of circulating angiogenesis inhibitor endostatin in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 889-93.
32. Dziańkowska-Bartkowiak B, Waszczykowska E, Zalewska A, et al.: Evaluation of serum vascular endothelial growth factor and endostatin in systemic sclerosis patients – correlation with lung and cardio-vascular system involvement. *Centr Eur J Immunol* 2004; 29: 15-22.