

Wpływ zaburzeń angiogenezy i waskulogenezy na rozwój twardziny układowej – przegląd piśmiennictwa

The role of disturbances of angiogenesis and vasculogenesis in pathogenesis of systemic sclerosis – review of literature

Bożena Dziańska-Bartkowiak, Jolanta Dorota Torzecka, Elżbieta Waszczykowska

Zakład Immunodermatologii Katedry i Kliniki Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Zakładu: prof. dr hab. med. Elżbieta Waszczykowska

Post Dermatol Alergol 2006, XXIII, 5: 224–227

Streszczenie

Twardzina układowa (*systemic sclerosis* – SSc) jest chorobą tkanki łącznej o niedokładnie poznanej etiologii, charakteryzuje się nadmiernym włóknieniem i zmianami w naczyniach krwionośnych skóry i narządów wewnętrznych. Na podstawie danych z piśmiennictwa w pracy przedstawiono współczesne poglądy dotyczące roli zaburzeń angiogenezy i waskulogenezy w patogenezie tej choroby.

Słowa kluczowe: angiogeneza, waskulogeneza, twardzina układowa.

Abstract

Systemic sclerosis (SSc) is a connective tissue disease of unknown aetiology, characterised by excessive fibrosis and microvascular abnormalities in the skin and many internal organs. In this article we present data about the role of disturbances of angiogenesis and vasculogenesis in the pathogenesis of SSc.

Key words: angiogenesis, vasculogenesis, systemic sclerosis.

Wstęp

Twardzina układowa (*systemic sclerosis* – SSc) jest chorobą tkanki łącznej o niedokładnie poznanej etiologii. Wyniki badań wskazują, że we wczesnej fazie rozwoju tej choroby zasadniczą rolę odgrywają nacieki zapalne wokół naczyń krwionośnych, apoptoza komórek śródbłonka i zaburzenia angiogenezy, natomiast w późniejszym okresie dominuje nadmierne odkładanie składników macierzy zewnątrzkomórkowej (*extra cellular matrix* – ECM) [1].

Tworzenie nowych naczyń krwionośnych jest złożonym procesem, na który składają się: angiogeneza (formowanie nowych kapilarów z komórek śródbłonka), waskulogeneza (powstawanie nowych naczyń z prekursorów angioblastycznych) i arteriogeneza (tworzenie nowych naczyń w obrębie już istniejącego łożyska naczyniowego) [2].

Cel pracy

Celem pracy jest przedstawienie na podstawie danych z piśmiennictwa najnowszych poglądów na temat wpływu zaburzeń tworzenia nowych naczyń krwionośnych w rozwoju oraz przebiegu twardziny układowej.

Omówienie

Angiogeneza jest zasadniczym mechanizmem tworzenia naczyń krwionośnych w różnych zjawiskach fizjologicznych, takich jak owulacja, przekrwienie ściany macicy w cyklu menstruacyjnym, dojrzewanie kości i wzrost włosów, oraz w procesach naprawczych (gojenie się ran) lub procesach chorobowych: miażdżycy, łuszczycy, retinopatii cukrzycowej i chorobach nowotworowych [3, 4]. Rola angiogenezy została najlepiej poznana w chorobach nowotworowych [5]. Znane są również doniesienia dotyczące wpływu zaburzeń tego procesu na rozwój chorób autoimmunologicznych [6–8]. W prawidłowych tkankach nie dochodzi do uruchomienia angiogenezy w wyniku zachowanej równowagi pomiędzy czynnikami pro- i antyangiogennymi.

U chorych na twardzinę układową w patogenezie zmian w obwodowych naczyniach krwionośnych odgrywa rolę uszkodzenie komórek śródbłonka przez czynniki pochodzące z komórek nacieku zapalnego (*transforming growth factor* β – TGF- β , *tumor necrosis factor* α – TNF- α , *interferon* γ – INF- γ), komórek tucznych (tryptaza), a także w wyniku zaburzeń produkcji kolagenu i fibrylizy [9]. W ostatnich latach wykazano, że interakcje komórkowe

Adres do korespondencji: dr med. Bożena Dziańska-Bartkowiak, Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź, tel./faks +48 42 686 45 65, e-mail: bozenadz@interia.pl

między limfocytami, leukocytami i komórkami endotelium regulują napięcie naczyń oraz hemostazę [10].

Jednym z następstw powstałego w twardzinie układowej niedokrwienia tkanek jest wytwarzanie aktywnych form tlenu. Na skutek m.in. wytwarzania tlenu azotu lub wzrostu wydzielania endoteliny – czynnika odpowiedzialnego za skurcz naczyń krwionośnych – dochodzi do uszkodzenia komórek śródbłonka i degradacji składników błony podstawnej naczyń, takich jak kolagen i proteoglikany [11, 12]. Potwierdzeniem tych obserwacji są wyniki badań niektórych autorów wskazujące na istotnie zmniejszoną ekspresję śródbłonkowego mRNA tlenu azotu (eNOS) w komórkach endotelium zarówno u chorych z postacią kliniczną *limited* (lSSc), jak i *diffuse* (dSSc) [13]. Uszkodzenie komórek endotelium powoduje kontakt limfocytów ze składnikami błony podstawnej naczyń – kolagenem typu IV, proteoglikanami, lamininą. Wzmocniona zaś adhezja limfocytów do śródbłonek jest także związana ze wzrostem ekspresji cząstek adhezyjnych: *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) na komórkach śródbłonka i *lymphocyte function-associated antigen-1* (LFA-1) na limfocytach [14]. Pobudzone limfocyty wytwarzają wiele cytokin, takich jak interleukiny IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, czynnik martwicy nowotworów α (tumor necrosis factor α – TNF- α), TGF- β i interferon γ (INF- γ), które biorą udział w dalszym uszkodzeniu i aktywacji śródbłonka [15–19]. Cytokiny są także jednym z czynników pobudzających fibroblasty do produkcji kolagenu i innych składników macierzy zewnątrzkomórkowej (*extracellular matrix* – ECM) [20].

Wyniki badań autorów wskazują, że destrukcja komórek endotelium wywiera także wpływ na angiogenezę [19]. Prawidłowy przebieg nowotworzenia naczyń krwionośnych jest zależny od równowagi pomiędzy czynnikami stymulującymi i hamującymi ten proces. Wykazano, że naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β), czynnik wzrostowy hepatocytów (*hepatocyte growth factor* – HGF), zasadowy fibroblastyczny czynnik wzrostu (*basic fibroblast growth factor* – bFGF) oraz interleukina 18 (IL-18) zwiększają tworzenie naczyń krwionośnych [21–23]. Natomiast czynnikami hamującymi angiogenezę są m.in. endostatyna, TNF- α , interleukina 10 (IL-10), jak również tkankowe inhibitory metaloproteinaz 1, 2 i 3 (*tissue inhibitor of metalloproteinases* – TIMP-1, -2, -3) [22]. Dodatkowym potwierdzeniem ważnej roli zaburzeń angiogenezy w rozwoju twardziny są doniesienia o hamującym wpływie monocytów i limfocytów pochodzących od chorych na SSc na indukcję tego procesu w badaniach *in vitro* [24, 25].

Znaczenie cytokin angiogennych w przebiegu chorób tkanki łącznej nadal jest mało poznane. Jedną z tych cytokin jest naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu. VEGF jest glikoproteiną o działaniu proangiogennym, mitogennym, zwiększającą przepuszczalność naczyń krwionośnych, a także działającą wybiórczo na komórki śródbłonka za pośrednictwem dwóch receptorów obecnych na ich powierzchni [22]. Cytokina ta wytwarzana jest przez komórki endotelium, mięśni gładkich, komórki nowotworowe oraz makrofagi i fibroblasty [22]. VEGF po połącze-

niu z receptorami zwiększa proliferację komórek śródbłonka naczyń, stymuluje aktywatory plazminogenu, indukuje ekspresję α - i β -integryn, a także zmienia aktywność kolagenazy [22]. Wyniki badań wykazały, że naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu wpływa również na przeżycie i migrację komórek śródbłonka [26].

W grupie chorób tkanki łącznej, m.in. w toczeniu rumieniowatym układowym i reumatoidalnym zapaleniu stawów, wykazano korelację pomiędzy podwyższonym stężeniem VEGF a aktywnością procesu chorobowego [27]. Zdania autorów dotyczące roli tego czynnika w patogenezie twardziny układowej są jednak rozbieżne. Opisywano zarówno korzystny wpływ VEGF na przyspieszenie gojenia owrzodzeń w okolicy paliczków [19], jak również część autorów wykazała, że zaburzenie produkcji VEGF może być jednym z czynników odpowiedzialnych za progresję choroby [19, 28]. Inni obserwowali jedynie podwyższone stężenie tej cytokiny u chorych w stosunku do grupy kontrolnej [29].

Najczęstszym czynnikiem wpływającym na tworzenie nowych naczyń krwionośnych jest niedotlenienie tkankowe [30]. Badanie histopatologiczne zmian skórnych w twardzinie wykazuje obecność nacieków komórkowych wokół naczyń krwionośnych, zmniejszenie liczby i światła naczyń krwionośnych oraz nadmierne gromadzenie składników macierzy zewnątrzkomórkowej [31]. Jednakże pomimo spowolnienia przepływu krwi i obniżenia ciśnienia parcjalnego tlenu nie wykazano w skórze pobudzenia procesu angiogenezy [25]. Stwierdzono, że surowice pochodzące od pacjentów z twardziną układową działają cytotoksycznie, bezpośrednio lub za pośrednictwem przeciwciał (*antibody dependent cellular cytotoxicity* – ADCC), na komórki śródbłonka naczyń [32–34]. W badaniach doświadczalnych wykazano, że zależnie od okresu rozwoju twardziny i jej postaci klinicznej surowice chorych wywierają różny wpływ na angiogenezę – stymulujący we wczesnych stadiach rozwoju *limited* SSc, a hamujący w postaci *diffuse* SSc [15].

Distler i wsp. wykazali zwiększoną ekspresję naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu w skórze chorych na twardzinę układową pomimo niewydolnej angiogenezy [1]. Stwierdzili również wyższe stężenia VEGF u chorych z *diffuse* SSc, u których nie obserwowano owrzodzeń paliczków dystalnych w porównaniu z osobami zdrowymi. Wyniki badań na modelu zwierzęcym wskazują również na paradoksalny wpływ długotrwałej nadekspresji VEGF na zaburzenie formowania nowych kapilar, przypominające zmiany obserwowane w twardzinie układowej. Autorzy podkreślają, że nie tylko niewydolna angiogeneza, ale również zaburzenia w procesie waskulogenezy wpływają na wystąpienie objawów naczyniowych w przebiegu SSc.

Potwierdzono, że formowanie nowych naczyń krwionośnych poza okresem płodowym nie jest wynikiem jedynie procesu angiogenezy, ale również istotną rolę spełniają progenitory komórek endotelialnych pochodzące z komórek szpiku kostnego (*circulating endothelial precursors* – CEP) [35]. Naczyniowe komórki progenitorowe znajdują się w szpiku kostnym, sercu, mięśniach szkieletowych i innych tkankach, a także w systemie naczyniowym [36]. Komórki te po-

siadają właściwości podobne do angioblastów embrionalnych – wykazują zdolność do proliferacji i przekształcania się w dojrzałe komórki śródbłonna, jednak bez typowej dla dojrzałych komórek endotelialnych morfologii czy zdolności do tworzenia światła naczyniowego. Identyfikowane są one dzięki charakterystycznemu powierzchniowemu fenotypowi pozytywnemu dla CD34, CD133 i VEGFR-2 (receptor kinazy tyrozynowej, Flk-1). W życiu pozapłodowym komórki te napływają do miejsca niedotlenienia lub zmian naczyniowych i podejmują funkcję tworzenia śródbłonna i nowych naczyń krwionośnych we współpracy z dojrzałymi komórkami endotelium [37]. Na podstawie wyników badań przeprowadzonych w grupie chorych na twardzinę układową i reumatoidalne zapalenie stawów (RZS, *rheumatoid arthritis* – RA) Kuwana i wsp. sugerują, że w przebiegu twardziny układowej zaburzenia procesu waskulogenezy mogą być związane z waskulopatią [35]. Badania wymienionych powyżej autorów wykonane zostały jedynie u pacjentek z SSc. Powodem takiego wyboru było częstsze występowanie tej choroby u kobiet niż u mężczyzn, a także prawdopodobny wpływ płci na liczbę i funkcję komórek CEP, ponieważ tworzenie nowych naczyń krwionośnych odbywa się w endometrium. Uzyskane wyniki wykazały znamienne mniejszą liczbę CEP w krążeniu chorych na SSc w porównaniu z wynikami uzyskanymi w grupie kontrolnej, a także obecność owrzodzeń i blizn na paliczkach dystalnych u pacjentek z ekstremalnie małą ich liczbą. Natomiast stężenie czynników proangiogennych było natomiast wysokie i nie korespondowało z liczbą CEP. Dotychczasowe wyniki badań oceniających stężenie czynników pro- i antyangiogennych w surowicy chorych na SSc wykazywały zaburzenie równowagi pomiędzy nimi, jednak nie stwierdzano podwyższonego stężenia endostatyny w stosunku do wyników uzyskanych w grupie kontrolnej [19]. Wcześniejsze badania własne, wykonane w grupie 34 chorych na twardzinę układową wykazały jednak wyższe stężenie tej niekolagenowej domeny kolagenu XVIII w surowicy chorych niż w grupie osób zdrowych [8], a także zmniejszenie stosunku VEGF do endostatyny u chorych z zajęciem układu oddechowego (wyniki nieopublikowane). Dlatego też nie można dokładnie określić udziału ww. czynników w procesie waskulogenezy. U chorych na cukrzycę, u których stwierdza się podobną do twardziny układowej waskulopatię, wykazano obniżoną wrażliwość CEP i ich komórek pnia na czynniki stymulujące angiogenezę [38].

Inni autorzy wykazali w badaniach przeprowadzonych na modelu doświadczalnym myszy transgenicznych LacZ, że naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu – C (VEGF-C) uwalniany z fibroblastów spełnia ważną funkcję w gojeniu ran poprzez zwiększenie migracji komórek progenitorowych dla endotelium pochodzących z pnia do kolagenu oraz uruchomienie angiogenezy i formowanie kolagenu [39].

Kuwana i wsp. sugerują możliwość wykorzystania w leczeniu zaburzeń naczyniowych w przebiegu twardziny układowej *granulocyte colony-stimulating factor* lub jego białka rekombinantowego, które ma zdolność uwalniania CEP ze szpiku kostnego.

W ostatnich latach pojawiły się również doniesienia o hamującym wpływie zanieczyszczeń środowiskowych na proces nowotworzenia naczyń krwionośnych. Wykazano, że 2-, 3-, 7-, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxyny (TCDD), aromatyczny hydroksywęgiel halogenowy oraz składniki dymu tytoniowego redukują proliferację komórek śródbłonna i zwiększają ekspresję składników macierzy zewnątrzkomórkowej [40].

Dotychczasowe dane z piśmiennictwa wskazują na istotny udział zaburzeń nowotworzenia naczyń krwionośnych zarówno w procesie angio-, jak i waskulogenezy w patogenezie twardziny układowej. Nowe dane podkreślające rolę, jaką spełniają progenitory komórek śródbłonna pochodzące z pnia, sugerują także możliwość wykorzystania ich w przyszłości w terapii zaburzeń naczyniowych u chorych na SSc.

Praca finansowana z funduszy pracy własnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi: 502-18-344.

Piśmiennictwo

1. Distler JH, Kalden JR, Gray S, et al. Vascular changes in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Z Rheumatol* 2004; 6: 446-50.
2. Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000; 407: 249-57.
3. Hebbbar M, Peyrat JP, Hornez L, et al. Increased concentrations of circulating angiogenesis inhibitor endostatin in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 889-93.
4. Velasco P, Lange-Asschenfeldt B. Dermatological aspects of angiogenesis. *Br J Dermatol* 2002; 147: 841-52.
5. Dvorak HF, Detmar M, Claffey KP, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: an important mediator of angiogenesis in malignancy and inflammation. *Int Arch Allergy Immunol* 1995; 107: 233-5.
6. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1995; 1: 27-32.
7. Robak E, Woźniacka A, Sysa-Jędrzejowska A, et al. Serum levels of angiogenic cytokines in systemic lupus erythematosus and their correlation with disease activity. *Eur Cytokine Netw* 2001; 12: 445-52.
8. Dzikowska-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.
9. Maricq HR, Weinrich MC, Valter I, et al. Digital vascular responses to cooling in subjects with cold sensitivity, primary Raynaud's phenomenon, or scleroderma spectrum disorders. *J Rheumatol* 1996; 23: 2068-78.
10. Fiocco U, Rosada M, Cozzi L, et al. Early phenotypic activation of circulating helper memory T cells in scleroderma: Correlation with disease activity. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 272-7.
11. Komosińska K, Olczyk K, Winsz K. Rola wolnych rodników w etiopatogenezie twardziny układowej. *Post Hig Med Dośw* 1997; 51: 285-303.
12. Poli G, Parola M. Oxidative damage and fibrogenesis. *Free Rad Biol Med* 1997; 22: 287-94.
13. Fimiani C. Systemic sclerosis: a woman disease. *Mod Asp Immunobiol* 2001; 1: 233-7.
14. Veale DJ, Kirk G, McLaren M, et al. Clinical implications of soluble intercellular adhesion molecule-1 levels in systemic sclerosis. *Br J Rheumatol* 1998; 37: 1227-8.
15. Majewski S, Skopińska-Rożewska E, Jabłońska S, et al. Modulatory effect of sera from scleroderma patients on lymphocyte-induced angiogenesis. *Arthritis Rheum*, 1985; 28: 1133-7.

16. Kantor TV, Friberg D, Medsger TA, et al. Cytokine production and serum levels in systemic sclerosis. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 3: 278-85.
17. Hausteil VF, Andereg U. Pathophysiology of scleroderma: an update. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 1998; 11: 1-8.
18. Mittag M, Beckheinrich P, Hausteil UF. Systemic sclerosis-related Raynaud's phenomenon: effects of illoprost infusion therapy on serum cytokine, growth factor and soluble adhesion molecule levels. *Acta Derm Venereol* 2001; 81: 294-7.
19. Distler O, del Rosso A, Giacomelli R, et al. Angiogenic and angiostatic factors in systemic sclerosis: increased levels of vascular endothelial growth factor are a feature of earliest disease stages and are associated with the absence of fingertip ulcers. *Arthritis Res* 2002; 4: R11.
20. Rudnicka L. Twardzina układowa. *Terapia* 1995; 6: 17-9.
21. Peper MS. Manipulating angiogenesis. From basic science to the bedside. *Artheroscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 605-7.
22. Joško J, Gwóźdź B, Jędrzejowska-Szypułka H, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its effect on angiogenesis. *Med Sci Monit* 2000; 6: 1047-52.
23. Park CC, Morel JC, Amin MA, et al. Evidence of IL-18 as a novel angiogenic mediator. *J Immunol* 2001; 167: 1644-53.
24. Kaminski MJ, Majewski S, Jabłońska S, et al. Lowered angiogenic capability of peripheral blood lymphocytes in progressive systemic sclerosis (scleroderma). *J Invest Dermatol* 1984; 82: 239-43.
25. Koch AE, Litvak MA, Burrows JC, et al. Decreased monocyte mediated angiogenesis in scleroderma. *Clin Immunol Immunopathol* 1992; 64: 153-60.
26. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. *Nature* 1996; 380: 435.
27. 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.
28. Kikuchi K, Kubo M, Kadano T, et al. Serum concentrations of vascular endothelial growth factor in collagen diseases. *Br J Dermatol* 1998; 139: 1049-51.
29. Choi JJ, Min DJ, Cho ML, et al. Elevated vascular endothelial growth factor in systemic sclerosis. *J Rheumatol* 2003; 30: 1529-33.
30. Matucci-Cerinic M, Generini S, Pignone A. New approaches to Raynaud's phenomenon. *Curr Opin Rheumatol* 1997; 9: 544-56.
31. Furst DE, Clements PJ. Pathogenesis, fusion (summary). In: *Systemic sclerosis*. Clements PJ, Furst DE (eds). Williams and Wilkins, Baltimore 1996: 275-83.
32. Kahaleh MB, Sherer GK, LeRoy EC. Endothelial injury in scleroderma. *J Exp Med* 1979; 149: 1326-30.
33. Penning CA, Cunningham J, French MA, et al. Antibody dependent cellular cytotoxicity of human vascular endothelium in systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1984; 57: 548-56.
34. Holt CM, Lindsey N, Moulton J. Antibody-dependent cellular cytotoxicity of vascular endothelium: characterisation and pathogenic associations in systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol* 1989; 78: 359-63.
35. Kuwana M, Okazaki Y, Yasuoka H, et al. Defective vasculogenesis in systemic sclerosis. *Lancet* 2004; 364: 603-10.
36. Caplice NM, Doyle B. Vascular progenitor cells: origin and mechanisms of mobilization, differentiation, integration, and vasculogenesis. *Stem Cells Dev* 2005; 2: 122-39.
37. Murayama T, Tepper OM, Silver M, et al. Determination of bone marrow-derived endothelial progenitor cell significance in angiogenic growth factor-induced neovascularization in vivo. *Exp Hematol* 2002; 30: 967-72.
38. Tepper OM, Galiano RD, Capla JM, et al. Human endothelial progenitor cells from type II diabetes exhibit impaired proliferation, adhesion and incorporation into vascular structures. *Circulation* 2002; 106: 2781-6.
39. Bauer SM, Bauer RJ, Liu ZJ, et al. Vascular endothelial growth factor-C promotes vasculogenesis, angiogenesis, and collagen constriction in three-dimensional collagen gels. *J Vasc Surg* 2005; 4: 699-707.
40. Ivnitiski-Steele I, Walker MK. Inhibition of neovascularization by environmental agents. *Cardiovasc Toxicol* 2005; 2: 215-26.