

(100)

Aktywność angiogenna i stężenie VEGF w surowicach chorych na cukrzycę powikłaną retinopatią prostą

Angiogenic activity and VEGF level in sera of diabetic patients with non-proliferative retinopathy

Piotr Skopiński^{1,2}, Barbara Duda-Król³, Anna Lipińska⁴, Ewa Sommer⁵, Joanna Chorostowska-Wynimko⁵, Urszula Demkow⁵, Jerzy Szaflik¹, Ewa Skopińska-Różewska⁵, Ewa Struzik¹

¹Z Katedry i Kliniki Okulistyki II Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jerzy Szaflik

²Z Zakładu Histologii i Embriologii, Centrum Biostruktury

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Stanisław Moskalewski

³Z III Kliniki Chorób Wewnętrznych II Wydziału Lekarskiego Akademii Medycznej w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Wojciech Łada

⁴Z Kliniki Chorób Wewnętrznych Oddziału Stomatologii Akademii Medycznej w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Danuta Pfeiffer

⁵Z Zakładu Diagnostyki Laboratoryjnej i Immunologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Ewa Skopińska-Różewska

Summary: Diabetic retinopathy is one of the most common causes of blindness. The majority of studies concerning this problem were performed in patients with late stage of disease, demonstrating proliferative retinopathy, when malformations of retinal vessels became irreversible (1). Numerous angiogenic factors related to retinal angiogenesis have been described. Among them, VEGF is thought to be the major mediator of proliferative retinopathy (2,3,4). Our present study was performed on sera collected from patients with earlier stage of ocular complications, manifested as background retinopathy. We have believed that the knowledge of the earliest events leading to pathological angiogenesis may be valuable for establishing some prophylactic regimens. Sera of 22 persons with DM1, aged 33-70 years, 37 persons with DM2, aged 37-79 years, 51 healthy people, aged 22-80 years (as controls) were studied. Direct serum-induced cutaneous angiogenesis test in mice (SIA) was applied (5,6). VEGF concentration in sera was measured by ELISA (R & D Systems) test. Angiogenic activity and VEGF concentration of DM1 patients sera were highly statistically lower than these parameters in DM2 patients and controls.

Słowa kluczowe: angiogeneza, retinopatia nieproliferacyjna, VEGF, cukrzyca typu 1. i typu 2.

Key words: angiogenesis, non-proliferative retinopathy, VEGF, diabetes type 1 (DM1) and type 2 (DM2).

Wprowadzenie i cel pracy

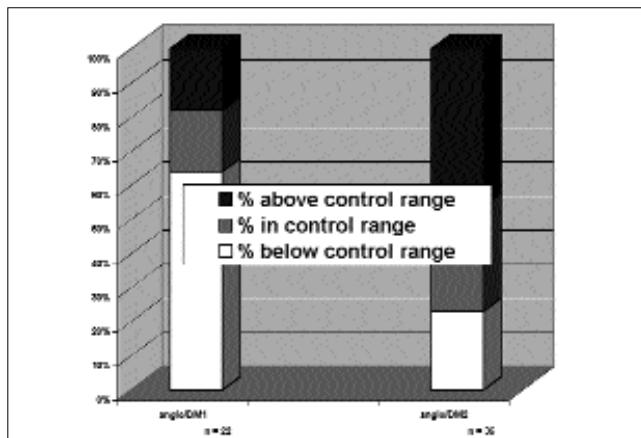
Retinopatia cukrzycowa jest jedną z częstszych przyczyn ślepoty. U jej podłoża leżą zaburzenia procesu angiogenezy. **Celem pracy** jest ocena i porównanie aktywności angiogennej surowic pacjentów z retinopatią prostą typu 1. (DM1) i typu 2. (DM2) oraz pomiar w nich stężenia VEGF (vascular endothelial growth factor).

Materiał

Materiał stanowiły surowice separowane z krwi 51 zdrowych dawców w wieku od 22 do 80 lat, obojga płci; 22 chorych z retinopatią prostą i cukrzycą typu 1. obojga płci w wieku od 33 do 70 lat oraz 37 chorych z retinopatią prostą i cukrzycą typu 2. w wieku od 37 do 79 lat, obojga płci.

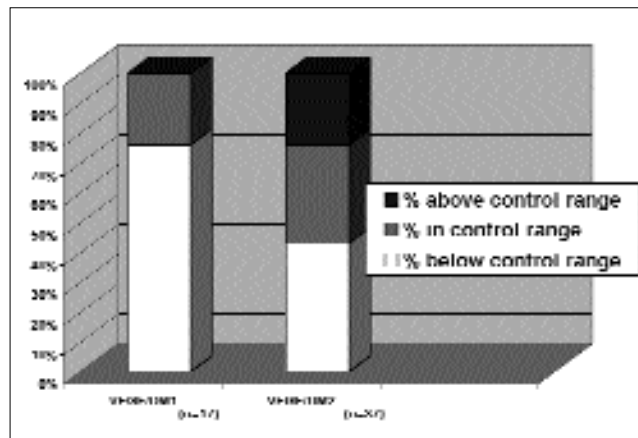
Metody

Zastosowano test angiogenezy skórnej (7) w modyfikacji własnej (5,6). Grupom myszy Balb/c podawano śródskórnym po 0,05 ml surowicy w kilka miejsc na ogolonej skórze grzbietu w znieczuleniu ogólnym (wodzian chloralu podany dootrzewnowo). Po 72 godzinach myszy uśmiercano Morbitalem i w mikroskopie operacyjnym liczono nowo powstałe naczynia krwionośne na wewnętrznej powierzchni skóry, w powiększeniu 6 razy, w 1/3 centralnej pola widzenia wokół punktu wstrzyknięcia surowicy, przyjmując kryteria autorów metody (7). Badanie stężenia VEGF w surowicach przeprowadzono testem ELISA zgodnie z procedurą zalecaną przez producenta (R & D, USA). Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę lokalnych komisji etycznych. Wyniki opracowano statystycznie (ANOVA, test Tukeya, test Manna-Whitneya, test chi²). Przedziały kontrolne stanowiły przedzia-



Ryc. 1. Odsetek pacjentów z DM1 i DM2, których aktywność angiogenna surowic jest powyżej, poniżej lub w przedziale kontrolnym (0,001 przedział ufności wyliczony dla 51 zdrowych ludzi, 39-67 nowo utworzonych naczyń).

Fig. 1. Frequency of DM1 and DM2 patients whose sera are below, in or above control range of angiogenic activity (0,001 confidence interval calculated for 51 healthy people, 39-67 newly formed blood vessels).



Ryc. 2. Odsetek pacjentów z DM1 i DM2, u których stężenie VEGF w surowicach było powyżej, poniżej lub w przedziale kontrolnym (0,001 przedział ufności wyliczony dla 39 zdrowych ludzi, 200-450 pg/ml).

Fig. 2. Frequency of DM1 and DM2 retinopathy patients whose sera are below, in or above control range of VEGF concentration (0,001 confidence interval calculated for 39 healthy people, 200-450 pg/ml).

ty dla wartości najbardziej oczekiwanych (przedziały ufności dla 0,001 obliczone dla wyników grup kontrolnych), które wynosiły dla testu angiogenezy od 39 do 67 nowo utworzonych naczyń, dla stężenia VEGF – od 200 do 450 pg/ml.

Wyniki

Wyniki przedstawiono w tabeli I i na rycinach 1 (angiogeneza) i 2 (VEGF). Wykazano istnienie wysoce istotnej różnicy pomiędzy aktywnością angiogenną a stężeniem VEGF w surowicach chorych na DM1 z jednej strony a tymi parametrami w surowicach chorych na DM2 i w surowicach osób zdrowych z drugiej strony. Oba badane parametry były niższe w surowicach chorych na DM1 niż w pozostałych badanych grupach osób.

Wnioski

Wydaje się, że za niską aktywność angiogenną surowic DM1 w pewnym stopniu może odpowiadać niskie stężenie VEGF. Nie można jednak wykluczyć istnienia innych czynników modulujących tę aktywność, które w sposób bezpośredni (działanie hamujące

aktywność komórek śródbłonka) lub pośredni (hamowanie produkcji VEGF) powodują zmniejszenie potencjału angiogennego surowicy. W naszych poprzednich badaniach wykazaliśmy podwyższoną aktywność konwertazy angiotensyny 1 (ACE) w surowicach pacjentów z retinopatią i DM1 (8). Aktywność ACE ujemnie korelowała z aktywnością proangiogenną surowic w tej grupie chorych. Nie stwierdziliśmy tego zjawiska u chorych z retinopatią i cukrzycą typu 2. Niższa aktywność angiogenna surowic oraz mniejsze stężenie VEGF w grupie pacjentów DM1 mogą wynikać z mechanizmów kompensacyjnych i adaptacyjnych związanych z dłuższym czasem trwania cukrzycy typu 1.

Otrzymane wyniki mogą sugerować odmienny mechanizm angiogenezy w DM1 i DM2.

PIŚMIENICTWO: 1. Das A., McGuire P. G.: *Retinal and choroidal angiogenesis: pathophysiology and strategies for inhibition*. Prog. Retin. Eye Res., 2003, 22, 721-748. 2. Aiello L. P., Wong J. S.: *Role of vascular endothelial growth factor in diabetic vascular complica-*

	DM1	DM2	Kontrola Control	Statystyczne różnice pomiędzy grupami Statistical significance of differences	
				I	II
VEGF stężenie concentration (pg/ml ± se)	136,11 ± 22 n = 17	316,16 ± 48 n = 37	324,30 ± 35 n = 35	p < 0,01 vs. kontrola vs. control	p < 0,01 vs. typ I vs. type I
średnia liczba nowo utworzonych naczyń ± se angiogenesis mean number of newly formed blood vessels ± se	40,99 ± 5,6 n = 22	63,2 ± 4,2 n = 35	53,53 ± 4,0 n = 51 vs. type II	p < 0,01 vs. typ II vs. control 0,1 > p > 0,05 vs. kontrola vs. control	ns. vs. kontrola

Tab. I. Stężenie VEGF (ang. śródbłonkowego czynnika wzrostu) oraz aktywność angiogenna surowic pochodzących od pacjentów z cukrzycową retinopatią prostą typu I i II.

Tab. I. VEGF (vascular endothelial growth factor) concentration and angiogenic activity of diabetic DM1 and DM2 patients sera.

tions. *Kidney Int. Suppl.*, 2000, 77, S113-S119. 3. Funatsu H., Yamashita H., Noma H., Shimizu E., Yamashita T., Hori S.: *Stimulation and inhibition of angiogenesis in diabetic retinopathy*. *Jpn. J. Ophthalmol.*, 2001, 45, 577-584. 4. Ozaki H., Seo M. S., Ozaki K., Yamada H., Yamada E., Okamoto N., Hofmann F., Wood J. M., Campochiaro P. A.: *Blockade of vascular endothelial growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularisation*. *Am. J. Pathol.*, 2000, 156, 697-707. 5. Rogala E., Skopińska-Różewska E., Załęska J., Borowska A., Demkow U., Skopiński P., Dziedzic D., Langford R., Orłowski T.: *Ocena aktywności enzymu konwertującego angiotensynę (ACE) oraz aktywność angiogenna surowic chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca*. *Onkol. Pol.*, 2002, 5, 139-142. 6. Barcz E., Skopińska-Różewska E., Kamiński P., Demkow U., Bobrowska K., Marianowski L.: *Angiogenic activi-*

ty and IL-8 concentrations in peritoneal fluid and sera in endometriosis. *Int. J. Gynecol. Obstetrics.*, 2002, 79, 229-235. 7. Sidky Y. A., Auerbach R.: *Lymphocyte-induced angiogenesis: A quantitative and sensitive assay of graft-vs-host reaction*. *J. Exp. Med.*, 1975, 141, 1084-1100. 8. Skopiński P., Sommer E., Kwiek S., Hevelke A., Rogala E., Skopińska-Różewska E.: *Angiotensin – Converting Enzyme (ACE) activity and angiomodulatory effects of diabetic retinopathy patients sera*. *Int. J. Clin. Pharm. Res.*, 2001, XXI, 27-32.

Praca wpłynęła do Redakcji 5.04.2004 r. (472).

Acknowledgement. The work was supported by grant of Scientific Poland Committee Nr. PO5B17223.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

Piotr Skopiński
Samodzielny Publiczny Kliniczny Szpital Okulistyczny
ul. Sierakowskiego 13
03-709 Warszawa

**Komitet Organizacyjny
VII MIĘDZYNARODOWEGO SYMPOZJUM
SEKCJI WSZCZEPÓW WEWNĄTRZGAŁKOWYCH I CHIRURGII REFRAKCYJNEJ
POLSKIEGO TOWARZYSTWA OKULISTYCZNEGO**

zaprasza do udziału w symposium, które odbędzie się w Warszawie w dniach
10–11 września 2004 roku

Miejsce obrad:

Centrum Kongresowo–Wystawiennicze Hotel Gromada, 02-148 Warszawa, 17 Stycznia 32

Tematy główne:

- powikłania w chirurgii zaćmy
- współczesne techniki fakoemulsyfikacji
- nowe techniki operacyjne w chirurgii refrakcyjnej
- tematy wolne

Organizator VII Międzynarodowego Symposium Sekcji Wszczepów Wewnętrznych i Chirurgii Refrakcyjnej PTO:

**Samodzielny Publiczny Kliniczny Szpital Okulistyczny w Warszawie,
03-709 Warszawa, ul. Sierakowskiego 13**

Szczegółowe informacje dotyczące udziału oraz zgłaszania prac są dostępne na stronie: www.polishcongress.com

Prof. dr hab. med. Jerzy Szaflik
Przewodniczący Komitetu Organizacyjnego