

(18)

Rola integrzyn w schorzeniach narządu wzroku

The role of integrins in eye diseases

Justyna Żaworonek¹, Beata Żelazowska-Rutkowska², Anna Bryl³, Małgorzata Mrugacz³, Bogdan Cylwik²

¹ Apteka Akademicka Fundacji Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: mgr farm. Justyna Żaworonek

² Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatricznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: dr hab. Bogdan Cylwik

³ Samodzielna Pracownia Rehabilitacji Narządu Wzroku Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Małgorzata Mrugacz

Abstrakt: Integryny należą do grupy cząsteczek adhezyjnych. Integryny i ich ligandy odgrywają istotną rolę w fizjologicznych i patologicznych procesach zachodzących w organizmie: migracji, różnicowaniu komórek, hemostazie i gojeniu ran. Głównym zadaniem integrzyn jest odbieranie i przekazywanie sygnałów biochemicznych i mechanicznych przez błonę komórkową w obu kierunkach. Sygnały prowadzą do przejścia integrzyn z postaci nieaktywnej w stan zdolny do wiązania ligandu. Integryny odgrywają ważną rolę w procesach fizjologicznych (embriogenezie, wzroście i rozwoju tkanek) i patologicznych (chorobach alergicznych, stanach zapalnych i nowotworowych). Szczególną funkcję pełnią w przebiegu zespołu suchego oka, zwyrodnienia plamki związaneego z wiekiem oraz cukrzycowego obrzęku plamki. Dokładne poznanie aktywności integrzyn może się przyczynić do powstania nowych metod diagnozowania i immunoterapii.

Słowa kluczowe: integryny α i β , choroby oczu, cząsteczki adhezyjne, ligand.

Abstract: Integrins belong to the cell adhesion molecules. Integrins and their ligands play the main role in physiological and pathological processes: cell migration, cell differentiation, hemostasis, adhesion, angiogenesis and wound healing. The main task of integrin is to facilitate biochemical and mechanical signal transmission across the plasma membrane in a bidirectional manner. The signals trigger integrin transformation from an inactive form into a ligand-binding state. Integrins play an important role in physiological (embryogenesis, tissue growth and development) and pathological (allergy, inflammation, cancer) processes, being particularly involved in dry eye disease, age-related macular degeneration and diabetic macular edema. Improved understanding of integrins can contribute to the development of new diagnostic methods and advances in immunotherapy.

Key words: integrins α and β , eye diseases, adhesion molecules, ligand.

Autorzy zgłaszają brak konfliktu interesów w związku z publikowaną pracą/ The authors declare no conflict of interest

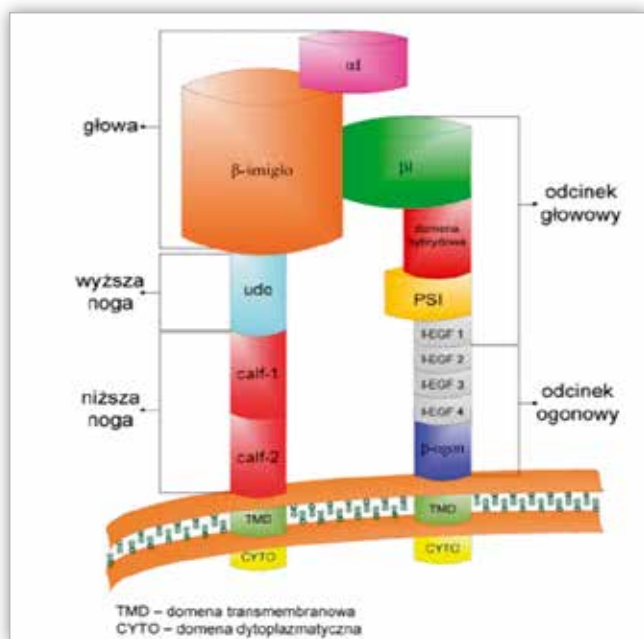
Integryny należą do grupy cząsteczek adhezyjnych (ang. Cell Adhesion Molecules – CAM) i stanowią dużą grupę białek związanych z błoną komórkową, które odpowiadają za adhezję, rozpoznawanie, a także komunikację na drodze komórka–komórka, komórka–składowe macierzy komórkowej. Integryny odbierają i przekazują sygnały biochemiczne i mechaniczne przez błonę komórkową w obu kierunkach. Sygnały, które powstają wewnątrz komórki, prowadzą do zmian konformacyjnych cząsteczki i przejścia integryny w stan zdolny do wiązania ligandu (1). W znaczący sposób wpływają również na integralność wiązań cytoszkieletu i macierzy pozakomórkowej (ang. Extracellular Matrix – ECM) (2).

Budowa integrzyn

Integryny są heterodimerycznymi glikoproteinami pełniącymi funkcję transbłonowych receptorów. Są zbudowane z 2 łańcuchów α i β , które łącząc się ze sobą, tworzą 24 kombinacje różnych heterodimerów. Te łańcuchy są związane niekowalencyjnie (3). Budowa przestrzenna integrzyn przypomina ludzką sylwetkę (ryc. 1.) (1). „Głowa” oparta jest na dwóch „nogach”, które przechodzą w domenę transbłonową. Interakcje między podjed-

nostkami α i β zachodzą najczęściej w obrębie „głowy” (4). Łańcuch α jest zbudowany z siedmiołopatkowego β -śmigła, które jest połączone z „udem”, domenami calf-1 i calf-2. Tak utworzona struktura podtrzymuje „głowę” integryny. Ostatnie 3 lub 4 łopatkki β -śmigła zawierają domeny, które wiążą Ca^{2+} . Łańcuch β jest zbudowany z domeny β I zawierającej jony Mg^{2+} , domeny hybrydowej i domeny obecnej w białkach należących do rodzin pleksyn, semaforyn lub integrzyn (Plexin/Semaphorin/Integrin Domain – PSI) oraz 4 naskórkowych czynników wzrostu bogatych w cysteinę (ang. Epidermal Growth Factor – EGF) (5). Dwuwartościowe jony są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania integrzyn. Każdy z jonów pełni inną funkcję. Jony Mn^{2+} i Mg^{2+} aktywują procesy adhezyjne. Jony Ca^{2+} w zależności od stężenia mogą wpływać hamująco lub stymulująco. Wysokie stężenie jonów Ca^{2+} hamuje adhezję, ich niskie stężenie z optymalnym stężeniem jonów Mg^{2+} natomiast stymuluje połączenie ligandu z integrzyną (6).

Na występowanie integrzyn i ich aktywność wpływają liczne czynniki, które są aktywatorami lub inhibitorami (7). Zalicza się do nich: hormony, cytokiny, mediatory reakcji zapalnej, aktywne składniki układu dopełniacza, aktywne postacie tlenu, endo-



Ryc. 1. Schemat budowy integryny (1).
Fig. 1. Integrin structure (1).

toksyny lub związki farmakologicznie czynne. Zmiana ekspresji receptorów integrynowych najczęściej odbywa się na poziomie transkrypcji (8). Częsteczką integryny jest bogata w reszty cysteinowe, które tworzą mostki disiarczkowe. Przejście integryny z nieaktywnej formy do postaci, która umożliwia wiązanie ligandu, jest poprzedzone reorganizacją wiązań disiarczkowych wewnątrz jej częsteczki. Tę reakcję katalizuje izomeraza disiarczkowa (ang. Protein Disulfide Isomerase – PDI). Przykładem udziału PDI w aktywacji integryny jest proces agregacji płytek (1).

Funkcje integryn

W zależności od rodzaju przyłączanego ligandu integryny można sklasyfikować w odpowiednie grupy. Integryny przyłączające lamininę: $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$, $\alpha_7\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$, integryny przyłączające kolagen: $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_3\beta_1$, $\alpha_{10}\beta_1$, $\alpha_{11}\beta_1$, integryny leukocytarne: $\alpha_L\beta_2$, $\alpha_M\beta_2$, $\alpha_X\beta_2$, $\alpha_D\beta_2$ oraz integryny rozpoznające sekwencję peptydową składającą się z aminokwasów: arginy, glicyny i kwasu asparaginowego (Arginyl-glycyl-aspartic acid – RGD): $\alpha_5\beta_2$, $\alpha_V\beta_1$, $\alpha_V\beta_3$, $\alpha_V\beta_5$, $\alpha_V\beta_6$, $\alpha_V\beta_8$, $\alpha_{IIb}\beta_3$. Inny podział uwzględnia posiadanie domeny α . Przynależność do jednej z rodzin integryn jest uwarunkowana łańcuchem β (najważniejsze to β_1 , β_2 i β_7) połączonym z różnymi łańcuchami α (1).

Podział integryn β / Classification of integrins β			
integryna/ integrin	klasyfikacja CD/ CD classification	umiejscowienie/ location	ligand/ receptor
VLA1 $\alpha_1\beta_1$	CD49a	limfocyty, fibroblasty, neutrofile, błona podstawna/ lymphocytes, fibroblasts, neutrophils, basal membrane	laminina, kolagen / laminin, collagen
VLA2 $\alpha_2\beta_1$	CD49b	limfocyty T, trombocyty, neutrofile, fibroblasty, śródbłonek, kom. nabłonkowe/ T-cells, thrombocytes, neutrophils, fibroblasts, endothelium, epithelial cells	laminina, kolagen/ laminin, collagen
VLA3 $\alpha_3\beta_1$	CD49c	fibroblasty, neutrofile, komórki nabłonkowe/ fibroblasts, neutrophils, epithelial cells	laminina, kolagen fibronektyna/ laminin, collagen, fibronectin
VLA4 $\alpha_4\beta_1$	CD49d	leukocyty (z wyjątkiem neutrofilów), limfocyty T, limfocyty B, eozynofile, makrofagi, fibroblasty/ leukocytes (except for neutrophils), T-cells, B-cells, eosinophils, macrophages, fibroblasts	VCAM-1, fibronektyna/ VCAM-1, fibronectin
VLA5 $\alpha_5\beta_1$	CD49e	limfocyty T, fibroblasty/ T-cells, fibroblasts	fibronektyna/ fibronectin
VLA6 $\alpha_6\beta_1$	CD49f	limfocyty T, trombocyty/ T-cells, thrombocytes	laminina/ laminin
LFA-1 $\alpha_L\beta_2$	CD11a/ CD18	leukocyty/ leukocytes	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3
Mac 1 $\alpha_M\beta_2$	CD11b/ CD18	monocyty, makrofagi, komórki szpiku/ monocytes, macrophages, bone marrow cells	fibrynogen, czynnik X, ICAM-1, ICAM-2/ fibrinogen, factor X, ICAM-1, ICAM-2
GP-150/ 95 $\alpha_X\beta_2$	CD11c/ CD18	monocyty, granulocyty, trombocyty, makrofagi, komórki szpiku/ monocytes, granulocytes, thrombocytes, macrophages, bone marrow cells	fibrynogen, fibronektyna, witronektyna, ICAM-1/ fibrinogen, fibronectin, vitronectin, ICAM-1
gpIIb/ IIIa $\alpha_{IIb}\beta_3$	CD61/ CD41	trombocyty/ thrombocytes	fibrynogen, czynnik von Willebranda/ fibrinogen, von Willebrand factor
Receptor witronektyny, VNR $\alpha_V\beta_3$ / vitronectin receptor, VNR $\alpha_V\beta_3$	CD61/ CD51	trombocyty, śródbłonek, komórki mezenchymalne/ thrombocytes, endothelium, mesenchymal cells	fibrynogen, fibronektyna trombospondyna, czynnik von Willebranda/ fibrinogen, fibronectin, thrombospondin, von Willebrand factor

Tab. I. Podział integryn β (18).
Tab. I. Classification of integrins β (18).

Każda z podjednostek β może utworzyć heterodimerski receptor z różnymi podjednostkami α . Wyjątkiem jest podjednostka α_V , która wiąże kilka różnych podjednostek β np.: $\alpha_V\beta_1$, $\alpha_V\beta_3$, $\alpha_V\beta_5$, $\alpha_V\beta_6$ (9, 10). Integryny β_1 są zwane późnym antygenem (ang. Very Late Antigens – VLA) lub CD29, ponieważ mogą się pojawiać od 2 do 7 tygodni po stymulacji limfocytów (tab. I).

Biorą one udział w wiązaniu się komórek z macierzą pozakomórkową. Wiążą lamininę, fibronektynę, vitronektynę, kolagen i inne białka macierzy pozakomórkowej, w związku z tym pełnią ważną funkcję w przyleganiu komórek do podłoża. Występują na wielu komórkach układu immunologicznego. Brak ich na erytrocytach. Eozynofile wykazują obecność $\alpha_4\beta_1$ i $\alpha_6\beta_1$ integryny, bazofile – $\alpha_4\beta_1$ i $\alpha_5\beta_1$ integryny, mastocyty – $\alpha_3\beta_1$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$ integryny. Neutrofile zawierają wszystkie integryny β_1 z wyjątkiem $\alpha_4\beta_1$. Integryny β_2 natomiast są obecne na błonach komórkowych wszystkich populacji leukocytów T. Jest to grupa, która posiada wspólny łańcuch β_2 , zwany też CD18. Może być on połączony z jedną z 3 podjednostek α tworzących miana CD11a, CD11b, CD11c. Do grupy integryn β_2 zalicza się: LFA-1, Mac-1 i glikoproteinę GP-150/95 (8).

Ligandami integryn są też receptory przeciwstawne, które należą do rodziny immunoglobulinopodobnych CAM (ICAM-1, VCAM-1). Występują one m.in. na powierzchni komórek śródbłonna. Te połączenia charakteryzują się dużą siłą wiązania. ICAM-1 jest ligandem dla integryny CD11a/CD18. ICAM-2 łączy się z integryną CD11b/CD18. Integryny CD11a/CD18 i CD11b/CD18 odgrywają istotną rolę w procesie zapalnym (10). Integryny β_3 są też nazywane cytoadhezynami. Pełnią one ważną funkcję w adhezji i agregacji płytek krwi, a także tworzeniu kompleksów płytkowo-leukocytarnych. Zalicza się do nich płytkową adhezynę gplIb/IIIa (CD61/CD41) oraz receptor dla vitronektyny (CD61/CD51), który występuje na błonie komórkowej śródbłonna oraz makrofagów (11).

Integryny w procesie zapalenia umożliwiają przechodzenie krwinek białych przez ścianę naczyń. Przyleganie leukocytów do powierzchni śródbłonna naczyniowego i wiązanie się z nią wynikają z połączenia integryny β_2 błony komórkowej leukocytu z receptorami przeciwstawnymi (ICAM-1, VCAM-1) komórek śródbłonna. β_2 integryna CD11b/CD18 pośredniczy wraz z bakteriami G(-) i interleukiną-1 w migracji komórek zapalnych. W przypadku zakażenia bakteriami G(+) komórki migrują na drodze niezależnej od CD11b/CD18 (12). Integryny uczestniczą też w procesie mechanotransdukcji (9).

Rola integryn w chorobach narządu wzroku

Integryny pełnią istotną rolę w prawidłowym rozwoju oka i utrzymaniu homeostazy, a także w rozwoju procesów patologicznych. W przypadku rogówkowego gojenia się ran z uszkodzonego nabłonka rogówki są uwalniane neutrofile i limfocyty, które docierają do miejsca urazu. Migracja neutrofilii zależy od integryn. Migrują one wzdłuż sieci keratocytów. Te aktywne keratocyty zagęszczają region obrażeń podścieliska. Interakcje keratocyty/miofibroblasty i ich integryny odgrywają ważną rolę w prawidłowym gojeniu się ran (12).

Delecja integryny β_1 soczewki powoduje małopocze wskutek apoptozy komórek nabłonka soczewki i rozpadu włókien soczewki. Dezaktywacja α_3 i α_6 integryn powoduje zaburzenia rozwoju soczewki (13).

Na podstawie wyników badań stwierdzono, że antagoniści integryny poprawiają objawy przedmiotowe i podmiotowe u pacjentów cierpiących na zespół suchego oka (ZSO) i cukrzycowy obrzęk plamki (ang. Diabetic Macular Edema – DME) oraz choroby z wyrodzeniem plamki związane z wiekiem (ang. Age-related Macular Degeneration – AMD) (14).

W przebiegu ZSO stwierdza się podwyższone stężenie czynnika stymulującego wzrost granulocytów i makrofagów (ang. Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor – GM-CSF), ono przyczynia się do powstania stanu zapalnego. Zablockowanie GM-CSF hamuje dojrzewanie i migrację CD11b, a w wyniku tego zmniejsza objawy kliniczne choroby (15). Środki lecznicze będące antagonistami α_V integryny mogą być stosowane w celu zapobiegania zmętnieniu torebki tylnej po zabiegu usunięcia zaćmy. W badaniach przeprowadzonych na myszach komórki pozbawione integryny α_V były przejrzyste i nie wykazywały żadnych nieprawidłowości (16). W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań nad miejscowym stosowaniem antagonisty VLA-4 w leczeniu ZSO. Na podstawie wyników tych badań stwierdzono, że miejscowe stosowanie anty-VLA-4 prowadzi do znacznego zmniejszenia objawów ZSO i tłumienia procesów zapalnych (17). Interakcja integryny LFA-1 z cząsteczką ICAM-1 odgrywa ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej, w tym aktywacji limfocytów T i migracji aktywowanych komórek T CD4⁺ z węzłów chłonnych do powierzchni oka. Lifitegrast jest antagonistą LFA-1, blokuje wiązanie ICAM-1 z LFA-1 (18).

Na powierzchni leukocytów występują β_2 integryny, które uczestniczą w adhezji do ściany naczyń, poprzez wiązanie umiejscowionej na śródbłonku cząsteczki ICAM-1. Aktywacja leukocytów prowadzi do wzrostu ekspresji β_2 integryny. Dlatego uważa się, że stopień ekspresji β_2 integryny odzwierciedla stan aktywacji leukocytów. Wzrost adhezji leukocytów do ściany naczyń i produkcja czynników o potencjalnym działaniu cytotoksycznym (wolne rodniki i TNF- α), uszkadzającym błonę naczyń (wolne rodniki i metaloproteiny), aktywującym odpowiedź zapalną ściany naczyniowej (IL-1, TNF- α i pochodne kwasu arachidonowego), a także pobudzającym proliferację fibroblastów i procesy włóknienia może prowadzić do przyspieszonego rozwoju zmian miażdżycowych i uszkodzenia drobnych naczyń w przebiegu retinopatii cukrzycowej (ang. Diabetic Retinopathy – DR) (19).

Integryny odgrywają również ważną rolę w przebiegu alergicznych chorób oczu. Objawami tych chorób są: łzawienie, zaczerwienienie i pieczenie oczu, świąd i światłowstręt. W wyniku reakcji alergicznej są wyzwolane mediatory, które powodują migrację komórek zapalnych (eozynofiliów, neutrofilów, bazofilów i limfocytów) do miejsca reakcji. Uczestniczą w tym również cząsteczki adhezyjne (selektyny, integryny i immunoglobuliny). Na pierwszym etapie są aktywowane P i E selektyny, a następnie integryny i immunoglobuliny (ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1, VCAM-4, LFA-1), które zapewniają trwałe połączenie eozynofili i bazofilii z komórkami śródbłonna naczyniowego. Z badań Fukushima i wsp. wynika, że w przebiegu alergicznego zapalenia spojówek dochodzi do nacieku eozynofili i zwiększenia stężenia cząsteczek CD11b (20).

Dokładne poznanie aktywności integryn i innych cząsteczek adhezyjnych może się przyczynić do powstania nowych metod diagnozowania oraz immunoterapii. Modyfikacja adhezji komór-

kowej może być wykorzystywana do zatrzymania patologicznych procesów zapalnych. Regulacja ekspresji integrzyn nie jest łatwa, ponieważ każda cząsteczka adhezyjna zajmuje więcej niż jeden rodzaj komórek oraz ma kilka ligandów, które w połączeniu dają różne efekty działania. Do pełnego zrozumienia złożonych procesów adhezyjnych konieczne jest kontynuowanie badań oraz poszukiwanie czynników, które wpływają na ekspresję integrzyn (1).

Piśmiennictwo:

- Popielarski M, Ponamarczuk H, Sobierajska K, Świątkowska M: *Rola izomerazy disiarczkowej w aktywacji integrzyn*. Postępy Hig Med Dośw. 201; 68: 666–683.
- Hynes R: *The emergence of integrins: a personal and historical perspective*. Matrix Biol. 2004; 23: 333–340.
- Hynes R: *Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines*. Cell. 2002; 110: 673–687.
- Hatahet F, Ruddock LW: *Protein disulfide isomerase a critical evaluation of its function in disulfide bond formation*. Antioxid Redox Signal. 2009; 11: 2807–2850.
- Barczyk M, Carracedo S, Gullberg D: *Integrins*. Cell Tissue Res. 2010; 339: 269–280.
- Mould AP, Akiyama SK, Humphries MJ: *Regulation of integrin $\alpha 5 \beta 1$ -fibronectin interactions by divalent cations. Evidence for distinct classes of binding sites for Mn^{2+} , Mg^{2+} and Ca^{2+}* . J Biol Chem. 1995; 270: 26270–26277.
- Sun Z, Guo SS, Fässler R: *Integrin-mediated mechanotransduction*. J Cell Biol. 2016; 215: 445–456.
- Borowska K, Jędrych B, Czerny K, Zabielski S: *Udział integrzyn w procesach fizjo- i patologicznych*. Pol Merk Lek. 2006; 21: 362–366.
- Sun Z, Guo SS, Fässler R: *Integrin-mediated mechanotransduction*. J Cell Biol. 2016; 215: 445–456.
- Arnaout MA: *Biology and structure of leukocyte $\beta 2$ integrins and their role in inflammation*. F1000Res. 2016, 5.
- Majewska E: *Udział cząsteczek adhezyjnych w procesie zapalnym*. Diagn Lab. 2003; 39: 407–420.
- Petrescu MS, Larry CL, Bowden RA, Williams GW, Gagen D, et al.: *Neutrophil interactions with keratocytes during corneal epithelial wound healing: a role for CD18 integrins*. Invest. Ophthalmol Vis Sci. 2007; 48: 5023–5029.
- Simirski VN, Wang Y, Duncan MK: *Conditional deletion of beta 1-integrin from the developing lens leads to loss of the lens epithelial phenotype*. Dev Biol. 2007; 306: 658–668.
- Gonzalez-Salinas R, Hernández-Zimbrón LF, Gullias-Cañizo R, Sánchez-Vela MA, Ochoa-de la Paz L, Zamora R, et al.: *Current anti-integrin therapy for ocular disease*. Semin Ophthalmol. 2017; 31: 1–9.
- Dohlman TH, Ding J, Dana R, Chauhan SK: *T cell-derived granulocyte-macrophage colony-stimulating factor contributes to dry eye disease pathogenesis by promoting CD11b+ myeloid cell maturation and migration*. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2017; 58: 1330–1336.
- Mamuya FA, Wang Y, Roop VH, Scheiblin DA, Zajac JC, Duncan MK: *The roles of αV integrins in lens EMT and posterior capsular opacification*. J Cell Mol Med. 2014; 18: 656–670.
- Ecoiffier T, El Annan J, Rashid S, Schaumerg D, Dana R: *Modulation of integrin alpha4beta1 (VLA-4) in dry eye disease*. Arch Ophthalmol. 2008; 126: 1695–1699.
- Pflugfelder SC, Stern M, Zhang S, Shojaei A: *LFA-1/ICAM-1 interaction as a therapeutic target in dry eye disease*. J Ocul Pharmacol Ther. 2017; 1: 5–12.
- Mastej K, Adamiec R: *Neutrophil surface expression of CD11b and CD62L in diabetic microangiopathy*. Acta Diabetol. 2008; 45: 183–190.
- Fukushima A, Ishida W, Ojima A, Kajisako M, Sumi T, Yamada J, et al.: *Participation of CD11b and F4/80 molecules in the conjunctival eosinophilia of experimental allergic conjunctivitis*. Int Arch Allergy Immunol. 2010; 151: 129–136.

Praca wpłynęła do Redakcji 31.01.2018 r. (KO-00148-2018)
Zakwalifikowano do druku 10.07.2018 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr n. med. Beata Żelazowska-Rutkowska
Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatrycznej
Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku
ul. Waszyngtona 17
15-274 Białystok
e-mail: zelazowskab@wp.pl