

(57)

# Rola nabłonka barwnikowego siatkówki w patogenezie cukrzycowego obrzęku plamki i jego leczeniu

## *Role of the retinal pigment epithelium (RPE) in the pathogenesis and treatment of diabetic macular edema (DME)*

Katarzyna Chmielewska, Jacek Robaszkiewicz, Mariusz Kosatka

Z Kliniki Okulistycznej Wojskowego Instytutu Medycyny w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Andrzej Stankiewicz

### Summary:

Pigment epithelium-derived factor (PEDF) has recently been shown to be the most potent inhibitor of angiogenesis in the mammalian eye, suggesting that loss of PEDF is involved in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. However, a protective role for PEDF in pericyte loss requires elucidation. Present studies suggest that PEDF proteins could protect against advanced glycation end product (AGE), which induce injury in retinal pericytes. Substitution of PEDF proteins may be a promising strategy in the treatment of patients with early diabetic retinopathy. Therefore, injury of RPE is the basic condition, not only of the progress of neovascularization, but initiation of early diabetic microangiopathy and macular edema as well. Recently new intravitreal drugs being used in the treatment of eye diseases with increased level of VEGF. Intravitreally administered a human, monoclonal anti-VEGF agent acts only as symptomatic treatment. It does not eliminate hypoxia and requires repeated administration. It is worth emphasizing, that VEGF functions are not limited to active angiogenesis, but also seems to require the maintenance and differentiation of mature blood vessels, such as the choriocapillaris. Therefore, delivery of these anti-VEGF treatments needs to be specific to sites of neovascularization or limited to a short duration, to prevent disruption of the normal vasculature. The effective method, which preserves RPE, improves oxygenation and release traction on the macula, leading to decreased permeability with subsequent resolution in DME, is pars plana vitrectomy with ILM peeling. There are several investigations that support the theoretical value of vitrectomy for the treatment of DME. Intraoperative administration of anti-VEGF agent and corticosteroids may additionally improve results of operative treatment.

### Słowa kluczowe:

czynnik pochodzący z nabłonka barwnikowego siatkówki, naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, retinopatia cukrzycowa, cukrzycowy obrzęk plamki, witreoretinopatia proliferacyjna, mezenchymalne odróżnicowanie komórek nabłonka, pars plana witekromia, usunięcie ILM.

### Key words:

pigment epithelium-derived factor, vascular endothelial growth factor, diabetic retinopathy, diabetic macular edema, proliferative vitreoretinopathy, epithelial-mesenchymal transition, pars plana vitrectomy, ILM peeling.

Na każdym etapie rozwoju retinopatii cukrzycowej może dojść do powstania obrzęku plamki DME (diabetic macular edema). Obszar plamkowy ze względu na strukturę anatomiczną i wysoką aktywność metaboliczną jest szczególnie predysponowany do akumulacji płynów. Poziomy przebieg włókien warstwy spłotowatej zewnętrznej i ich luźne upakowanie stwarzają dużą podatność na gromadzenie się płynu filtrowanego z naczyń włosowatych. Dołkowa strefa beznaczyniowa ogranicza z kolei jego absorpcję. Dodatkowo duża koncentracja komórek o wysokim metabolizmie sprawia, że zapalenie czy też metaboliczne lub naczyniowe zaburzenia ogólnoustrojowe prowadzą do koncentracji metabolitów i utraty aktywności biochemicznej fotoreceptorów w obszarze plamkowym.

Płyn obrzękowy zaburzający strukturę siatkówki powstaje w wyniku uszkodzenia mikrokrążenia siatkówkowego, lecz jego gromadzenie się może pierwotnie wynikać z dysfunkcji nabłonka barwnikowego siatkówki RPE (retinal pigment epithelium) (1). Jest

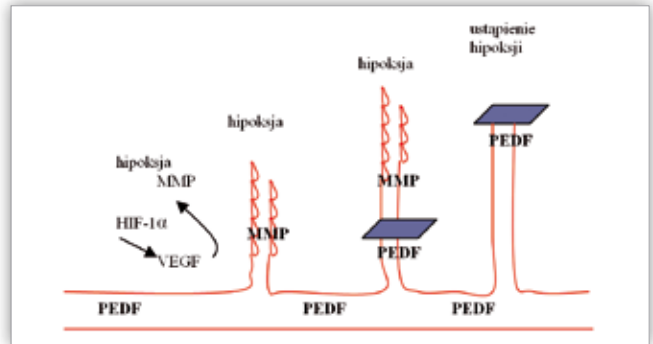
on źródłem PEDF (pigment epithelium-derived factor), silnego czynnika angiostatycznego, czynnika troficznego dla perycytów naczyń siatkówkowych (pobudza ich proliferację) oraz czynnika różnicowania dla samego RPE (stymuluje dojrzewanie melaniny i przyleganie komórek do siebie) (2,3). Ochronna rola PEDF przed utratą perycytów we wczesnej retinopatii cukrzycowej wymaga jeszcze wyjaśnienia. Sugeruje się, że polega ona na zabezpieczeniu komórki przed uszkodzeniem przez końcowe produkty glikacji AGE (advanced glycation end product) (4). Stopniowa utrata perycytów w mikroangiopatii cukrzycowej powoduje zmianę elastyczności naczyń prowadzącą do tętniakowatych rozdęć, tzw. mikroaneuryzmatów. Są one źródłem ogniskowego przecieku składników osoczowych, powodując obrzęk siatkówki oraz gromadzenie złogów lipidowych zwanych wysiękami twardymi. Dlatego prawidłowe funkcjonowanie RPE jest niezbędne w celu zachowania nie tylko zewnętrznej bariery krew-siatkówka, ale także bariery wewnętrznej i prawidłowego mikrokrążenia siatkówkowego.

Niedotlenienie tkanki siatkówkowej powoduje wzrost koncentracji czynnika transkrypcji indukowanego hipoksją HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor 1 subunit  $\alpha$ ), który pomaga komórkom zaadaptować się do niższej podaży tlenu. Swoistymi „detektorami” niedotlenienia siatkówki są astrocyty rozmieszczone w warstwie włókien nerwowych wokół naczyń, na złączu szkliskowo-siatkówkowym. Pod wpływem HIF-1 $\alpha$  astrocyty zwiększają ekspresję genów naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu VEGF (vascular endothelial growth factor). VEGF jest czynnikiem proliferacji śródbłonka oraz powoduje wzrost przepuszczalności naczyń poprzez rozluźnienie połączeń między komórkami śródbłonka. Zmiany te początkowo mogą być korzystne. Poprawiają utlenowanie tkanki siatkówki poprzez miejscowy wzrost przepuszczalności naczyń włosowatych. Najwcześniejszym objawem klinicznym niedotlenienia centralnej siatkówki jest poszerzenie włośniczek okołodołkowych. Niestety, przedłużająca się hipoksja indukuje również zwiększoną syntezę metaloproteinaz tkankowych MMP (matrix metalloproteinases), które powodują degradację białek macierzy pozakomórkowej oraz proteolizę PEDF. W warunkach fizjologicznych obecność PEDF w tkance i we krwi hamuje wzrost nowych naczyń. Lokalny wzrost stężenia MMP eliminuje tę antyangiogenną aktywność. Pozwala więc komórkom śródbłonka stymulowanym VEGF na niekontrolowaną proliferację i inwazję do obszarów niedotlenionej tkanki. Powstają nowe patologiczne naczynia, które rosnąc, doprowadzają krew, a wraz z nią – PEDF. Jeżeli hipoksja ustępuje, to w warunkach braku MMP, PEDF aktywnie blokuje dalszą neowaskularyzację, a nawet jej regresję (ryc. 1) (5).

W sytuacji przedłużającej się hipoksji proliferacja naczyń postępuje. Klinicznie manifestuje się to rozwojem nowotworstwa na tarczy nerwu wzrokowego NVD (new vessels at disc) i na powierzchni siatkówki NVE (new vessels elsewhere). Naczynia te są nieszczelne, co prowadzi do przecieku składników osoczowych krwi, i mogą być źródłem krwawienia do ciała szklistego oraz stanowią matrycę dla proliferacji włóknisto-naczyniowych.

Dlatego prawidłowa synteza PEDF przez komórki nabłonka barwnikowego odgrywa kluczową rolę w progresji ocznych schorzeń przebiegających z nowotworzeniem naczyń, a substytucja białek PEDF stwarza możliwość postępowania terapeutycznego. U pacjentów z wczesną retinopatią cukrzycową może zapobiegać progresji choroby, a w stadium retinopatii proliferacyjnej – hamować neowaskularyzację. Niezbędnym warunkiem jest jednoczesna poprawa utlenowania siatkówki. Możliwość taką daje witrektomia, która ułatwia pasaż bogatotlenowej cieczy wodnistej przez komorę ciała szklistego do wewnętrznych warstw siatkówki.

Przewlekłe utrzymujący się obrzęk siatkówki może powodować reakcję odczynową ze strony komórek glejowych (6,7) i wytworzenie odczynów zlepnych szkliskowo-siatkówkowych, szczególnie wzdłuż nieszczelnych naczyń. Stanowi jakby próbę uszczelnienia przecieku. Niestety, ostatecznie prowadzi do nieprawidłowych połączeń szkliskowo-siatkówkowych, powodując przednio-tylną trakcję pociągającą siatkówkę dośrodkowo, oraz tworzenia błon nasiatkówkowych ze stycznymi trakcjami. Początkowo mogą być one przeziernie i dlatego klinicznie nierozpoznawalne, lecz istotne biomechanicznie. Obkurczając się stopniowo, mogą wykazywać istotne pociąganie uszkodzonego już przez cukrzycę łoża naczyniowego plamki, nasilając jej obrzęk. Powstające błony nasiatkówkowe i proliferacje włóknisto-naczyniowe w dalszym etapie prowadzą do trakcyjnego i/ lub przedarciowego odwarstwienia siatkówki.



**Ryc. 1.** Przedłużająca się hipoksja chroni przed degradacją czynnika indukowanego hipoksją HIF-1 $\alpha$ , który prowadzi do ekspresji VEGF, a także ekspresji i aktywacji MMPs. MMPs lokalnie wywołują proteolizę PEDF, co pozwala komórkom śródbłonka na proliferację i inwazję. Kiedy nowo powstałe naczynie wypełnia się krwią zawierającą PEDF, wobec braku MMPs dochodzi do aktywnego zablokowania neowaskularyzacji.

**Fig. 1.** Prolonged hypoxia protects hypoxic response factor HIF-1 $\alpha$  from degradation, thus leads to VEGF expression and thus MMP expression and activation. MMPs locally leads to proteolytic cleavage of PEDF thus allowing endothelial cells to proliferate and invade. Once a vessel is formed and begins allowing blood to flow, PEDF returns to actively blocking neovascularization in the absence of MMPs.

Trakcyjne pełnościenne przedarcia siatkówki, często połączone z krwawieniem, związane są z przedostaniem się komórek RPE do komory ciała szklistego. Obecność komórek RPE w szkliste, poddawanych czynnikom humoralnym takim jak: TGF  $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ), wywołuje zmiany w ekspresji białek, co zmienia ich właściwości biologiczne. Mezenchymalne odróżnicowanie komórek RPE (epithelial-mesenchymal transition) uważane jest za kluczowe wydarzenie w patogenezie witreoretinopatii proliferacyjnej PVR (proliferative vitreoretinopathy). Jest to jakby odmłodzenie komórek, które tracą charakter komórek nabłonka, a odzyskują pierwotną, mezenchymalną zdolność migracji, proliferacji i produkcji kolagenu. Odróżnicowanie ludzkich komórek RPE *in vitro* skutkuje znaczącym zmniejszeniem ekspresji białek związanych z wysoko wyspecjalizowanymi funkcjami RPE, a indukuje syntezę białek związanych z reorganizacją kształtu komórki, adhezją, migracją i przekazywaniem sygnałów proliferacyjnych (8). Dopóki komórki RPE znajdują się we właściwym miejscu, tzn. w sąsiedztwie siatkówki neurosensorycznej, stanowią pokład jednowarstwowego nabłonka. Są pod kontrolą neuronalną, a neuropeptydy siatkówkowe stanowią pierwsze endogenne inhibitory proliferacji komórek RPE (9). Patologie związane z utratą przylegania siatkówki do nabłonka barwnikowego, przede wszystkim odwarstwienia siatkówki, prowadzą do patologicznej proliferacji komórek nabłonka barwnikowego – widoczne linie demarkacyjne. Odróżnicowanie ich do komórek o charakterze miofibroblastów odpowiada za tworzenie tak niebezpiecznych proliferacji pod- i nasiatkówkowych.

Strategia leczenia cukrzycowego obrzęku plamki powinna opierać się na prawidłowym zdiagnozowaniu przyczyny obrzęku na podstawie badania angiograficznego oraz ocenie anatomicznej siatkówki i złącza szkliskowo-plamkowego w badaniu OCT. Właściwa kwalifikacja jest niezbędna w celu wyboru odpowiedniej strategii leczenia pacjentów z retinopatią cukrzycową.

Leczenie cukrzycowego obrzęku plamki powinno być wielokierunkowe i polegać na: prawidłowym wyrównaniu metabolicznym i normalizacji ciśnienia tętniczego (czynnik naczyniowy), zmniejszeniu zapotrzebowania energetycznego RPE i zwiększeniu produkcji PEDF (czynnik nabłonkowy) oraz wzroście stężenia tlenu w komorze ciała szklistego i zwolnieniu trakcji szkliskowo-siatkówkowych (czynnik szkliskowy). Niezbędnym warunkiem jest rozpoczęcie leczenia we wczesnym okresie, gdy nie ma jeszcze obszarów siatkówki pozbawionych perfuzji włóscinkowej. Możliwość kompleksowej terapii daje witrektomia tylna z usunięciem ILM, w skojarzeniu z iniekcjami doszkliskowymi leków anti-VEGF i kortykosteroidów oraz fotokoagulacją laserową siatkówki. Wcześniej przeprowadzona operacja ma na celu:

1. **cytoprotekcję nabłonka barwnikowego siatkówki**, który jest źródłem fizjologicznego czynnika antyangiogenego. Niestety, źle przeprowadzona fotokoagulacja nieodwracalnie niszczy nabłonek barwnikowy siatkówki i sama może być przyczyną neowaskularyzacji;
2. **zmniejszenie zapotrzebowania tlenowego siatkówki**. Prawidłowa fotokoagulacja siatkówki obwodowej ma na celu wysypanie ziaren melaniny z melanosomów do mikrosomów komórek nabłonka barwnikowego. Powoduje to zmniejszenie tempa fagocytozy zewnętrznych członów fotoreceptorów, która jest procesem związanym z wysokim zużyciem tlenu (10). Ponadto prawidłowo przeprowadzona fotokoagulacja nie tylko nie niszczy nabłonka barwnikowego, lecz także pobudza ekspresję PEDF (11);
3. **poprawę utlenowania wewnętrznych warstw siatkówki**. Witrektomia przez część płaską ciała rzęskowego jest jakby jatrogennym odłączeniem ciała szklistego. Przewagą tej metody nad naturalnym procesem odłączenia szkliski jest łatwiejszy pasaż bogatotlenowego płynu wodnistego przez komorę ciała szklistego. Istotne znaczenia ma również szybsze oczyszczanie „refreshment” komory ciała szklistego z czynników wzrostu, głównie VEGF, które zwiększają przepuszczalność naczyń. Dokładne usunięcie kory ciała szklistego znosi obwodowe trakcje, dzięki czemu zapobiega tworzeniu przedarć siatkówki oraz pozbawia rusztowania dla potencjalnych proliferacji nasiatkówkowych;
4. **zwolnienie trakcji w obrębie złącza szkliskowo-plamkowego poprzez usunięcie błony granicznej wewnętrznej siatkówki ILM** (inner limiting membrane). Ten wyjątkowo trudny technicznie manewr powoduje dodatkowo dekompresję neuronów w obrębie plamki poprzez ułatwienie melioracji płynu śródsiatkówkowego do komory ciała szklistego.
5. **hamowanie cytokin VEGF i cytokin prozapalnych, aktywności MMP** dzięki zastosowaniu iniekcji doszkliskowych leków anti-VEGF, kortykosteroidów oraz ogólnego podawania NLPZ. Leki hamujące aktywność VEGF mogą być stosowane jedynie doraźnie w celu uszczelnienia bariery krwi-siatkówka. Długotrwałe ich stosowanie mogłoby całkowicie uszkodzić regulację przepuszczalności naczyń i nabłonek barwnikowego, a poprzez to doprowadzić do anemizacji centralnej siatkówki, „wysuszenia plamki” z nieodwracalnym uszkodzeniem funkcji widzenia. Krótkotrwałe zastosowanie leków anti-VEGF może natomiast poprawić wyniki leczenia operacyjnego.

#### Piśmiennictwo:

1. Weinberger D, Fink-Cohen S, Gatton DD, Priel E, Yassur Y: *Non-retinovascular leakage in diabetic maculopathy*. Br J Ophthalmol 1995 August, 79(8), 728-731.
2. Baldysiak-Figiel A, Lang GK, Lang GE: *Effect of PEDF on the Proliferation of Bovine Retinal Pigment Epithelial Cells and Pericytes*. Graefé's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology Springer Berlin/ Heidelberg Volume 241, Supplement 1 / September 2003, Poster 661-916.
3. Marciniak K, Butwicka A, Nowak JZ: *PEDF – endogeny czynnik o silnym działaniu neuroprotektynym, neurotroficznym i antyangiogenym*. Postępy Hig Med Dosw 2006, 60, 387-396.
4. 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 Aug 30, 296(4), 877-882.
5. Reiter CD, Hamilton MM, King CR, Brough DE, Wei LL, Carrión ME: *MMP-9 modulates Pigment Epithelium-Derived Factor control of angiogenesis via proteolysis*. Poster presented at the Association of Research for Vision in Ophthalmology (ARVO) 2006 Annual Meeting.
6. Uemura A, Kusuhara S, Wiegand SJ, Yu RT, Nishikawa JSI: *Tlx acts as a proangiogenic switch by regulating extracellular assembly of fibronectin matrices in retinal astrocytes*. Clin Invest 2006 February 1, 116(2), 369-377.
7. Yamada H, Yamada E, Ando A, Seo MS, Esumi N, Okamoto N, Vinoro M, LaRochelle W, Zack DJ, Campochiaro PA: *Platelet-Derived Growth Factor-A-Induced Retinal Gliosis Protects against Ischemic Retinopathy*. Am J Pathol 2000 February, 156(2), 477-487.
8. Alge CS, Suppmann S, Priglinger SG, Neubauer AS, Welge-Lüssen U, Ueffing M, Kampik AA: *Proteomic Approach to PVR: Comparative Proteome Analysis of Native, Differentiated and Cultured, Differentiated Human RPE Cells*. Investigative Ophthalmology and Visual Science 2003, 44, 3629-3641.
9. Troger J, Sellemund S, Kieselbach G, Kralinger M, Schmid E, Teichner B, Nguyen Q A, Schretter-Irschick E, Göttinger W: *Inhibitory Effect of Certain Neuropeptides on the Proliferation of Human Retinal Pigment Epithelial Cells*. British Journal of Ophthalmology 2003, 87, 1403-1408.
10. Sarangarajan R, Apte SP: <http://www.molvis.org/molvis/Melanization and phagocytosis: Implications for age related macular degeneration>. Molecular Vision 2005, 11, 482-490.
11. Hattenbach LO, Beck KF, Pfeilschifter J, Koch F, Ohrloff Ch, Schacke W: *Pigment-Epithelium-Derived Factor Is Upregulated in Photocoagulated Human Retinal Pigment Epithelial Cells*. Ophthalmic Research 2005, 37, 341-346.

Praca wpłynęła do redakcji 26.09.2007 r. (991)  
Zakwalifikowano do druku 20.05.2008 r.

**Adres do korespondencji (Reprint requests to):**  
lek. med. Katarzyna Chmielewska  
Klinika Okulistyczna WIM MON  
ul. Szaserów 128  
00-909 Warszawa