

Received: 2007.02.26
Accepted: 2007.05.07
Published: 2007.06.15

Rola komórek śródbłonna w patogenezie układowego toczenia rumieniowatego*

The role of endothelial cells in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus

Ewa Robak, Monika K. Kierstan, Lilianna Kulczycka, Anna Sysa-Jędrzejowska

Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Streszczenie

Układowy toczeń rumieniowaty (SLE – systemic lupus erythematosus) jest przewlekłą, wielonarządową chorobą tkanki łącznej o podłożu autoimmunizacyjnym. Choroba charakteryzuje się różnorodnością objawów klinicznych. W jej patogenezie uwzględnia się rolę czynników genetycznych, środowiskowych oraz hormonalnych, które mogą być odpowiedzialne za złożone zjawiska immunologiczne. W ostatnim okresie coraz więcej uwagi zwraca się na rolę angiogenezy i waskulogenezy oraz ich zaburzeń w patogenezie SLE. Uszkodzenie naczyń ujawnia się klinicznie obecnością objawów skórnych, nerkowych, sercowo-naczyniowych, mózgowo-naczyniowych oraz żołądkowo-jelitowych. W surowicy krwi chorych na SLE, oprócz typowych przeciwciał przeciwnajdrowych, można stwierdzić również obecność przeciwciał kardiolipinowych, przeciwciał białku CRP oraz przeciwciał komórek śródbłonna naczyniowego (AECA – antiendothelial cell antibodies). AECA wzbudzają duże zainteresowanie badaczy i przyjęto uznawać podwyższone ich miano za marker uszkodzenia naczyń. Wydaje się także, że mogą one odpowiadać za powikłania naczyniowe występujące w tej chorobie, co potwierdza związek między stopniem aktywności SLE a mianem AECA. We krwi chorych na SLE występuje podwyższona liczba krążących komórek śródbłonna (EC). Jednocześnie stwierdza się większą ekspresję naczyniowych molekuł adhezyjnych zarówno w miejscu toczącego się procesu zapalnego, jak również w skórze zdrowej, co wskazuje na ogólnoustrojową aktywację EC. Wykazano także dodatnią korelację między liczbą EC a stopniem aktywności choroby, poziomem składowej C3 dopełniacza i obecnością przeciwciał przeciwkardiolipinowych. Obserwacje te wskazują na rolę śródbłonna naczyniowego w patogenezie SLE i potrzebę prowadzenia dalszych badań w celu pełnego wyjaśnienia złożonych zaburzeń immunologicznych w tej chorobie.

Słowa kluczowe:

układowy toczeń rumieniowaty • angiogeneza • komórki śródbłonna • przeciwciała przeciwko komórkom śródbłonna

Summary

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease affecting connective tissue. It is characterized by a variety of clinical symptoms. In the pathogenesis of SLE, genetic as well as environmental and hormonal factors are considered to be responsible for the development of multiple immunological phenomena. Recently, the process of angiogenesis and vasculogenesis and their dysfunction has been considered in the pathogenesis of SLE. Vascular lesions seem to be responsible for the cutaneous, nephritic, cardiovascular, and gastrointestinal symptoms. Besides the typical antinuclear antibodies, anticardiolipin, anti-CRP, and antiendothelial

* Praca finansowana z funduszu prac statutowych nr 503-11-191 i pracy własnej nr 502-11-354.

cell antibodies are also present in the serum of SLE patients. Recently, antiendothelial cell antibodies (AECAs) have greatly aroused the interest of researchers. An increased titer of AECAs is assumed to be a vascular damage marker. It seems that AECAs can be responsible for vascular damage in SLE, thus confirming the strong relationship between SLE activity and AECA titers. In SLE patients' blood samples, increased levels of circulating endothelial cells (ECs) were also found. At the same time, higher adhesive molecule expression was detected at the inflammation site as well as in the healthy skin, which may indicate general endothelial cell activation. Positive correlation between EC count, C3 complement, and anticardiolipin antibodies and disease activity was also demonstrated. The above observations show the great impact of the vascular endothelium in the pathogenesis of SLE. There is an urgent need to continue further research on this subject.

Key words: systemic lupus erythematosus (SLE) • endothelial cells (ECs) • antiendothelial cell antibodies (AECAs)

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10563.pdf

Word count: 2655

Tables: 2

Figures: –

References: 59

Adres autorki: dr hab.med. Ewa Robak, Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź; O e-mail: robaktad@onet.pl, robaktad@csk.am.lodz.pl

WSTĘP

Toczeń rumieniowaty układowy (SLE – systemic lupus erythematosus) jest wielonarządową chorobą tkanki łącznej o podłożu autoimmunizacyjnym. Charakteryzuje się przewlekłym i nawrotowym przebiegiem. Choroba dotyczy zwykle młodych kobiet. Jej obraz kliniczny jest zróżnicowany. W trakcie kolejnych zaostrzeń u tego samego pacjenta mogą nie tylko nasilić się wcześniej zgłaszane dolegliwości, ale także może dojść do zajęcia procesem chorobowym kolejnych narządów. Różnorodność objawów klinicznych i serologicznych w SLE była podstawą do sformułowania w 1982 r. przez Amerykańskie Towarzystwo Reumatologiczne kryteriów diagnostycznych, które zostały zmodyfikowanych w 1997 r. [27]. Stwierdzenie co najmniej 4 spośród 11 z nich upoważnia do rozpoznania układowego toczenia rumieniowatego (tabela 1).

Patogeneza SLE nie jest do końca wyjaśniona. Wiadomo, że za występujące w tej chorobie złożone zaburzenia immunologiczne mogą być odpowiedzialne czynniki genetyczne, środowiskowe i hormonalne [2]. Wzmoczone wytwarzanie poliklonalnych autoprzeciwciał skierowanych przeciwko różnym antygenom, głównie jądra komórkowego, formowanie kompleksów immunologicznych oraz ich odkładanie w ścianach naczyń krwionośnych i tkankach różnych narządów zapoczątkowuje reakcję zapalną.

W ostatnich latach coraz większą rolę w patogenezie SLE przypisuje się zaburzeniom procesu angiogenezy. Uszkodzenie naczyń w tej chorobie klinicznie objawia się jako zapalenie naczyń skóry, kłębuszkowe zapalenie nerek, objawy sercowo-naczyniowe, naczyniowo-mózgowe oraz rzadziej żołądkowo-jelitowe [16]. Upośledzenie funkcji naczyń oraz toczący się proces zapalny w tkankach zwiększają zapotrzebowanie na tlen co jest bodźcem stymulują-

cym nowotworzenie naczyń krwionośnych. „Głód tlenowy” w tej chorobie może być potęgowany niewydolnością mechanizmów kompensacyjnych w wyniku niszczenia przez autoprzeciwciała elementów morfotycznych krwi (erytrocyty, trombocyty, leukocyty), a także czynników krzepnięcia krwi. W surowicy chorych mogą być obecne różnorodne przeciwciała, w tym także przeciwdiolipinowe, skierowane przeciwko białku CRP [49] lub komórkom śródbłonna (AECA). Coraz więcej danych wskazuje, że to właśnie AECA odgrywają znaczącą rolę w patogenezie naczyń powikłań w układowym toczniu rumieniowatym [16,17,52]. Obserwacje kliniczne wskazują, że w grupie chorych na SLE, którą w większości stanowią młode kobiety, niezwykle często obserwuje się predyspozycję do przyspieszonego rozwoju miażdżycowego stwardnienia naczyń. Poza naturalnymi czynnikami ryzyka, sama choroba predysponuje do rozwoju tego procesu, którego nasilenie nie zawsze koreluje z układowym zapaleniem lub ze stopniem aktywności choroby [54]. Rajagopalan i wsp. [41] w swych badaniach wykazali rolę apoptotycznych EC (endothelial cells), których liczba u młodych pacjentek z SLE była podwyższona i zbliżona do porównywalnej grupy starszych mężczyzn z rozwiniętą chorobą wieńcową. Powyższe obserwacje wskazują, że uszkodzenie komórek śródbłonna może przyspieszać rozwój miażdżycowego stwardnienia ściany naczyń w przebiegu SLE oraz mogą wyjaśniać przyczynę 50-krotnie częstszego rozwoju powikłań sercowo-naczyniowych u młodych 35–44-letnich pacjentek z tą chorobą [12]. Ponadto uzyskane wyniki wskazują również na udział apoptozy EC w patogenezie choroby [41].

BUDOWA I FUNKCJA ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ

Komórki śródbłonna stanowią wewnętrzną wyściółkę naczyń krwionośnych. Ich liczbę ocenia się na $1-6 \times 10^{13}$ u dorosłe-

Tabela 1. Zmodyfikowane kryteria diagnostyczne układowego toczenia rumieniowatego wg Amerykańskiego Towarzystwa Reumatologicznego (ACR), (wg [27])

Kryteria diagnostyczne	Charakterystyka objawów
1. Rumień twarzy	umiejscowiony na grzbiecie nosa i policzkach w kształcie motyla
2. Zmiany rumieniowo-bliznowaciejące	ogniska rumieniowo-naciekowe ze złuszczeniem i rogowaceniem przymieszkowym i zanikowym bliznowaceniem
3. Nadwrażliwość na światło	rumień w następstwie nadmiernej reakcji na światło słoneczne
4. Owrzodzenia jamy ustnej	nadżerki na śluzówkach jamy ustnej i nosogardzieli zazwyczaj niebolesne
5. Zapalenie stawów	zapalenie dwóch lub więcej stawów obwodowych, bez nadżerek objawiające się obrzękiem
6. Zapalenie błon surowiczych	zapalenie opłucnej lub osierdzia, zazwyczaj wysiękowe
7. Zaburzenia nerkowe	białkomocz stały >0,5 g/dobę lub obecność walczków każdego typu
8. Zaburzenia neurologiczne	drgawki niezwiązane ze stosowaniem leków, zaburzeniami metabolicznymi i elektrolitowymi lub psychoza (po wykluczeniu innych przyczyn, polekowych, metabolicznych i mocznicy)
9. Zaburzenia hematologiczne	niedokrwistość hemolityczna lub limfopenia <1,500/ml w dwóch lub większej liczbie oznaczeń lub leukopenia <4,000/ml w dwóch lub większej liczbie oznaczeń lub trombocytopenia <100,000/ml, wykluczając przyczyny polekowe
10. Zaburzenia immunologiczne	przeciwciała anti-dsDNA w podwyższonym mianie lub obecność przeciwciał anti-Sm lub obecność przeciwciał antyfosfolipidowych oceniana na podstawie 1) nieprawidłowego miana przeciwciał antykardiolipinowych w zakresie IgG, lub IgM, 2) dodatni test na obecność antykoagulanty toczniowego w rutynowych testach, 3) fałszywie dodatnie kiłowe odczyny serologiczne w ostatnich 6 miesiącach
11. Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA)	podwyższone miano przeciwciał przeciwjądrowych w teście immunofluorescencyjnym lub innym równoważnym, wykluczając tożen indukowany lekami

go człowieka, a powierzchnię, którą pokrywają na 1–7 m² [13]. Śródbłonek naczyń tworzy swoistą barierę oddzielającą tkanki organizmu od krwi wypełniającej naczynia oraz aktywnie uczestniczy w wymianie pomiędzy tymi dwoma środowiskami. Poprzez wydzielanie oraz powierzchniową ekspresję wielu swoistych cząsteczek, komórki śródbłonka zapewniają prawidłowy przepływ krwi w naczyniach, a tym samym homeostazę całego organizmu. Na ich powierzchni są obecne receptory wielu molekuł białkowych (czynniki wzrostu, czynniki krzepnięcia), cząsteczek transportujących lipidy (LDL), metabolitów (tlenek azotu, serotonina) hormonów (endothelina 1) oraz genów. (tabela 2).

Śródbłonek bierze aktywny udział w procesie krzepnięcia i fibrylizacji (m.in. w wytwarzaniu czynnika von Willebrandta), procesie prezentacji antygenów zgodności tkankowej oraz regulacji napięcia naczyniowego. Proces kontroli napięcia naczyniowego, a tym samym ciśnienia tętniczego zachodzi dzięki ciąglemu wytwarzaniu dwóch substancji: prostacykliny PGI-1 oraz tlenku azotu (NO) [25,37]. Prostacyklina, produkt metabolizmu kwasu arachidonowego poza relaksującym wpływem na mięśniówkę naczyń krwionośnych, hamuje także agregację płytek krwi. Taką samą funkcję spełniają dwa inne mediatory wytwarzane przez komórki śródbłonka. Jednym z nich jest czynnik relaksujący pochodzący ze śródbłonka (endothelium-derived relaxing factor – EDRF) odkryty w 1980 r, który dodatkowo zmniejsza adhezję płytek krwi do śródbłonka naczyń oraz 13-HODE (13-hydroxy-9,11octadecadienoic acid) [26]. W komórkach śródbłonka po raz pierwszy zidentyfikowano śródbłonkową syntetazę tlenku azotu

(eNOS), która jest jednym z trzech enzymów zdolnych do wytwarzania tlenku azotu. W obrębie śródbłonka tlenek azotu pełni główną rolę w regulacji miejscowego ciśnienia krwi oraz hamuje agregację i adhezję płytek krwi. Wykazano, że zdolność funkcjonalna eNOS jest niezbędna w procesie angiogenezy i przebudowy naczyń krwionośnych [47]. Na komórkach śródbłonka zidentyfikowano receptory Toll-podobne (TLRs – Toll-like receptors). Występują one nie tylko na monocytach, makrofagach, granulocytach, ale też na limfocytach i komórkach nabłonkowych. Znane są także postaci rozpuszczalne tych receptorów znajdujące w płynach wydzielniczych. Przyłączenie ligandu egzogenego (bakterie, wirusy) lub endogenego do TLR powoduje aktywację odpowiedzi immunologicznej, rozwój procesu zapalnego (wzrost uwalniania cytokin prozapalnych), zwiększoną ekspresję antygenów głównego kompleksu zgodności tkankowej klasy I i II, cząsteczek kostymulujących na komórkach prezentujących antygen, a co za tym idzie lepszą prezentację antygeny i w konsekwencji odpowiednią aktywację odporności nabytej. Dokładne poznanie mechanizmów efektorowych i transdukcji sygnałów w wyniku przyłączenia ligandu do TLR może mieć duże znaczenie w wyjaśnieniu mechanizmów odróżniania antygenów własnych od obcych, aktywacji procesu zapalnego, a także wpływu odporności wrodzonej na aktywację, swoistość i typ odporności nabytej [7].

Komórki śródbłonka pośredniczą również w migracji leukocytów do miejsca zapalenia lub uszkodzenia tkanek, zachodzącej z udziałem m.in. IL-6 i IL-8 [13]. EC syntetyzują enzymy proteolityczne, a wśród nich metaloproteinazy macierzy

Tabela 2. Funkcjonalny podział mediatorów uwalnianych przez EC (wg [54])

Czynniki zmniejszające napięcie ściany naczyń tlenek azotu prostacyklina EDHF* sodowo-mocznikowe białko C EDRF 13-HODE	Czynniki zwiększające napięcie ściany naczyń endotelina 1 angiotensyna II endoperoxydaza (PGH2) tromboxan A2
Czynniki antyzakrzepowe tkankowy aktywator plazminogenu (t-AP) prostacyklina tlenek azotu EDRF 13-HODE	Czynniki prozakrzepowe inhibitor-1 tAP tromboksan A2 czynnik von Willebrandta
Czynniki hamujące wzrost tlenek azotu prostacyklina sodowo-mocznikowe białko C	Czynniki stymulujące wzrost rodniki ponadtlenkowe endotelina angiotensyna II
Inhibitory zapalenia tlenek azotu	Stymulatory zapalenia ponadtlenki i inne wolne rodniki TNF- α

* EDHF – endothelium derived hyperpolarizing factor (czynnik hiperpolaryzujący).

pozakomórkowej (m.in. kolagenazy 1, 8 i 13; żelatynazy 2 i 9; stromielizyny 3, 10, 11) [34] i aktywatory plazminogenu uczestniczące w destrukcji okołonaczyniowej macierzy zewnątrzkomórkowej, umożliwiając migrację komórek śródbłonna poza naczynia i zapoczątkowanie angiogenezy. Ten proces tworzenia nowych naczyń krwionośnych w obrębie już istniejącego łożyska naczyniowego jest kontrolowany przez wzajemne oddziaływanie czynników pro- i antyangiogenywnych. W warunkach fizjologicznych dominuje angiosupresja. Zaburzenie tej równowagi może prowadzić do niekontrolowanej, patologicznej angiogenezy, co zdarza się w chorobach nowotworowych oraz w wielu chorobach zapalnych, w tym również w układowych chorobach tkanki łącznej.

UDZIAŁ KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA W PROCESIE ANGIOGENEZY

Szczególną cechą komórek śródbłonna jest ich zdolność do upodobniania się morfologicznego oraz funkcjonalnego do tkanek, które zasiedlają. Różnice dotyczą nawet tego samego narządu [3,44]. Wpływ na różnicowanie się EC ma prawdopodobnie lokalne środowisko oraz współoddziaływanie z komórkami otaczającymi, które zachodzi poprzez wydzielanie mediatorów, wzajemną adhezję komórek oraz syntezę białek macierzy zewnątrzkomórkowej, w obrębie której proliferują EC, tworzą naczynia [24]. Istnieją także morfologiczne odmienności EC zależne od kalibru naczyń. Inaczej zbudowany jest śródbłonek małych, a inaczej dużych naczyń krwionośnych.

Komórki śródbłonna mogą być aktywowane wielokrotnie podczas swojego życia poprzez te same lub różne cytokiny zapalne lub czynniki wzrostu, a tym samym przybierać różne fenotypy i właściwości [30].

W warunkach fizjologicznych komórki śródbłonna pozostają w fazie spoczynku z niskim potencjałem proliferacyj-

nym, a ich funkcja wiąże się z redukcją tworzenia spontanicznych zakrzepów i prewencją adherencji krążących płytek i leukocytów. W razie ich uszkodzenia lub zapalenia dochodzi do stymulacji różnych mechanizmów obronnych. W chorobach przebiegających z uszkodzeniem naczyń krwionośnych, m.in. w toczeniu rumieniowatym układowym i systemowych postaciach zapalenia naczyń dochodzi do aktywacji komórek EC [21]. Badania immunohistochemiczne wycinków skórnych chorych na SLE wskazują, że następstwem aktywacji EC jest zwiększona ekspresja trzech molekuł adhezyjnych ICAM-1, VCAM-1 i E-selektyny, które sprzyjają adherencji leukocytów do ścian naczyń, a następnie ich migracji do otaczających tkanek. Ponadto dochodzi do wzrostu stężenia produktu rozkładu kompleksu C3a, desArg oraz obniżenia C3 i C4 składowych dopełniacza. Niektóre przeciwciała stwierdzone u chorych na SLE także mogą aktywować śródbłonek. Przykładem są przeciwciała antyfosfolipidowe (aPL), które w obecności kofaktora β 2GPI zwiększają przyleganie leukocytów i wzmagają tworzenie zakrzepów [38]. Przeciwciała skierowane przeciwko dsDNA chorych na toczenie rumieniowate zwiększają wytwarzanie interleukiny 1 β (IL-1 β) i IL-6 przez ludzkie komórki śródbłonna żyły pępowinowej (HUVEC – human umbilical vein endothelial cell) [35]. Następstwem zjawisk toczących się na śródbłonku jest rozwój reakcji zapalnej oraz uszkodzenie nie tylko ściany naczyń krwionośnych, ale także otaczających tkanek [28]. Wyniki przeprowadzonych badań u chorych na SLE, wskazują na zwiększoną ekspresję naczyniowych molekuł adhezyjnych nie tylko w miejscach toczącego się procesu zapalnego w okresie aktywnym choroby (naczynia kłębuszków nerkowych), ale także w skórze zdrowej nieekspozowanej na promieniowanie UV. Obserwacja ta potwierdza istotną w tej chorobie rolę śródbłonna naczyniowego w inicjowaniu nie tylko miejscowego, ale również uogólnionego uszkodzenia tkanek przez aktywowa-

ne leukocyty [9,14,36]. We krwi obwodowej pacjentów z toczeniem rumieniowatym układowym oraz innymi chorobami przebiegającymi z uszkodzeniem naczyń obserwuje się podwyższony poziom krążących komórek śródbłonna, które są markerem uszkodzenia naczyń (circulating endothelial cells – CEC) [29,57]. Stwierdzono również, że komórki te wykazują fenotyp aktywacji (wzrost azotanu tyrozyny) jako wynik ich pobudzenia przez prozapalne cytokiny. Ponadto ich liczebny wzrost dodatkowo koreluje ze stopniem aktywności SLE ocenianej z użyciem skali SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index) [14]. Zaobserwowano również wyraźną pozytywną zależność tej podwyższonej liczby CEC z poziomem C3a składowej dopełniacza oraz z obecnością przeciwciał antykariolipinowych. Powyższe obserwacje potwierdzające uszkodzenie naczyń w SLE wskazują, że jest to proces uogólniony i może być związany z odkładaniem kompleksów immunologicznych. Stwierdzono także, że wzrost liczby aktywowanych CEC może być markerem uszkodzenia śródbłonna związanego ze wzrostem uwalniania przez nie czynników prozapalnych i prozakrzepowych [14].

Pochodzenie komórek śródbłonna krążących we krwi obwodowej nie jest do końca wyjaśnione. Do niedawna sądzono, że główną rolę w procesie naprawy naczyń odgrywają aktywowane EC uwalniane z istniejących naczyń, które następnie w wyniku migracji i proliferacji w miejscu uszkodzenia stymulują nowotworzenie naczyń w wyniku angiogenezy. W 1997 r. Asahara i wsp. opisali komórki wywodzące się ze szpiku kostnego (circulating endothelial progenitor cells – CEPC) mające zdolność zasiedlania miejsc uszkodzenia śródbłonna naczyniowego [22,39,57]. Wykazano, że w niektórych chorobach, zwłaszcza nowotworowych, pod wpływem uwalniania przez komórki guza proteiny SDF-1 (stromal derived factor-1) dochodzi do mobilizacji i migracji CEPC ze szpiku kostnego do miejsc nowotworzenia, gdzie następnie komórki te rozpoczynają proces nowotworzenia naczyń w wyniku waskulogenezy. Ta obserwacja wskazuje, że w procesie regeneracji naczyń istotne znaczenie odgrywa nie tylko angiogeneza, jak dotychczas sądzono, ale również postnatalna waskulogeneza, czyli proces tworzenia naczyń *de novo* z endotelialnych komórek prekursorowych (EPC – endothelial precursor cells) [6,40].

EPC mogą prezentować fenotyp embrionalnych angioblastów, które są krążącymi komórkami śródbłonna, wykazującymi zdolność proliferacji i różnicowania w komórki dojrzałe, jednak bez cech charakterystycznych dla dojrzałego śródbłonna, co wpływa na ich odrębność. Badania eksperymentalne wskazują, że poza SDF-1 również inne czynniki angiogenne, takie jak: VEGF, angiopoetyna czy erytropoetyna mogą mobilizować prekursorowe komórki śródbłonna ze szpiku kostnego do miejsc wzmożonej angiogenezy, a więc prawdopodobnie i w innych niż nowotworowe chorobach może być stymulowana postnatalna waskulogeneza [4,23,43]. Pulę wszystkich komórek śródbłonna dorosłego człowieka stanowią 3 różne subpopulacje: pierwsza to komórki budujące ścianę naczynia (resting CEC – rCEC), druga – aktywowane krążące komórki śródbłonna (activated CEC – aCEC) i trzecia – komórki śródbłonna obecne w szpiku kostnym (endothelial progenitor cells – EPC) [29]. Ich identyfikacji dokonuje się na podstawie obecności lub braku swoistych markerów powierzchniowych.

Komórki progenitorowe definiuje się jako CD 45– oraz CD 31+, CD 34+ i CD 133+. Dla komórek rCEC charakterystyczny jest fenotyp: CD 45–, CD 133–, CD 105–, CD 106–, CD 31+, CD 34+, CD 146+; natomiast dla aCEC: CD 45–, CD 105+ i CD 106+.

Badania eksperymentalne dowiodły, że u chorych na SLE wzrost liczby CEC koreluje ze stopniem uszkodzenia śródbłonna naczyń, a także z nasileniem objawów chorobowych [58]: jest wyższy u pacjentów w okresie zaostrzenia i znacznie niższy u chorych w okresie remisji. Stąd też zjawisko to może być wykorzystane w monitorowaniu skuteczności stosowanego leczenia [22]. Poza ilościową oceną CEC, również określanie fenotypu tych komórek może odgrywać znaczącą rolę. Pomimo intensywnie prowadzonych badań dotychczas nie wyjaśniono klinicznych konsekwencji zróżnicowania fenotypowego EC. Wydaje się, że niektóre subpopulacje CEC mogą się przyczyniać do rozwoju uszkodzenia naczyń krwionośnych przez inicjowanie procesów prozakrzepowych. [22]. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że apoptoza EC wiąże się z istotnym wzrostem potencjału zakrzepowego związanego ze wzrostem generacji mikrocząsteczek bogatych w fosfolipidy i w mechanizmie zależnym od czynnika tkankowego TF (tissue factor) [56].

Poziom i aktywność TF oceniano w różnych stanach chorobowych związanych z tworzeniem zakrzepów, takich jak choroba wieńcowa czy układowe choroby tkanki łącznej w tym SLE. Jednakże mechanizm odpowiedzialny za wzrost poziomu TF u chorych na SLE dotychczas nie został wyjaśniony. Wzrost apoptozy EC może być również związany ze zmniejszeniem uwalniania tlenu azotu oraz następowym nasileniem zakrzepicy płytkowej, co klinicznie wyraża się miażdżycowym stwardnieniem naczyń [41].

Istnieją doniesienia, w których podkreślano udział komórek śródbłonna w wywoływaniu zapalenia małych naczyń, zależnych od przeciwciał ANCA (antineutrophil cytoplasmic antibodies). Obraz histopatologiczny w tych przypadkach wskazuje, że EC podlegają nekrozie, a następnie są uwalniane z błony podstawnej do krwi obwodowej. Stwierdzenie ich obecności we krwi obwodowej pacjentów z zapaleniem małych naczyń krwionośnych zależnych od ANCA może być markerem aktywności procesu chorobowego [58].

AECA – ROLA W PATOGENEZIE SLE

Od chwili oryginalnego opisu przeciwciał skierowanych przeciwko komórkom śródbłonna (antiendothelial cell antibodies – AECA) w 1970 r, coraz więcej doniesień wskazuje na ich obecność w wielu stanach chorobowych [56]. Coraz częściej podkreśla się rolę AECA w procesie uszkodzenia naczyń krwionośnych u chorych na SLE oraz w innych chorobach określanych jako naczyniowe, takich jak: twardzina, ziarniniak Wegenera, mieszana choroba tkanki łącznej, zespół hemolityczno-mocznicowy, zespół Sjögrena, reumatoidalne zapalenie stawów, zapalenie naczyń, choroba Kawasakiego [32].

AECA należą do immunoglobulin klasy IgA, IgM, IgG. Stanowią one heterogenną grupę przeciwciał skierowanych przeciwko różnym determinantom antygenowym umiejscowionym

wionych na komórkach śródbłonna zależnych od antygenów zgodności tkankowej HLA klasy II i antygenów grupowych krwi. Te antygenowe epitopy nie są swoiste tylko dla EC, ponieważ ich obecność wykazano także na powierzchni fibroblastów i w mniejszym stopniu na powierzchni leukocytów i monocytów [31]. AECA są wiązane przez fragment F(ab')₂ a nie przez region Fc. Reaktywność tej heterogenicznej grupy przeciwciał jest niezależna od obecności przeciwciał przeciwjądrowych (ANA), anty-dsDNA, przeciwciał przeciw rozpuszczalnemu antygenom jądra komórkowego czy czynnika reumatoidalnego [18]. Częstość występowania EACA w surowicy pacjentów z SLE waha się w dość szerokich granicach od 15–80%. Tintore i wsp. [51] w badaniach porównujących obecność AECA w różnych chorobach stwierdził ich obecność u 20 z 50 (40%) pacjentów z rozpoznaniem SLE, u 9 z 84 (11%) badanych ze stwierdzeniem rozsianym, w przypadku udaru mózgu u 3 z 39 (9%) oraz nie wykazał ich obecności u 76-osobowej grupy ludzi zdrowych [51]. Ostatnie doniesienia wskazują na istotny wpływ AECA w wywoływaniu zaburzeń funkcji śródbłonna i ich rolę w patogenezie SLE [11,19,20,21]. W warunkach *in vitro* i *in vivo* wykazano, że pod wpływem AECA wyizolowanych z surowicy krwi chorych na SLE wzrasta ekspresja molekuł adhezyjnych na śródbłonnku ludzkiej żyły pępowinowej [10,55].

Patogenne działanie AECA polega na aktywacji komórek śródbłonna, która prowadzi do wzmożonej ekspresji śródbłonkowych cząsteczek adhezyjnych, wydzielania chemokin i cytokin prozapalnych [5]. Niektóre z tych przeciwciał wpływają na miejscowe wytwarzanie czynnika tkankowego, a tym samym zapoczątkowują proces zakrzepowy. Inne doniesienia podkreślają patogenną rolę AECA związaną z indukcją apoptozy EC [8,42]. Badacze austriaccy wskazują natomiast, że apoptoza komórek jest spowodowana raczej cytotoxycznością zależną od przeciwciał [48]. Saadi i wsp. [46] w swych badaniach wykazali, że kompleksy ludzkich kseroreaktywnych AECA ze składową C5b67 dopełniacza są odpowiedzialne za zmianę kształtu i powstawanie szczelin bez śmierci zwierzęcych komórek śródbłonna, oraz że kompleksy te wpływają na

wzrost przenikalności w zakresie jednej warstwy. Proces ten może być hamowany poprzez wzrost aktywności międzykomórkowego cAMP, który stabilizuje cytoskeleton komórek i połączeń międzykomórkowych [46].

Poza AECA, które mają charakter patogenny, u zdrowych dorosłych ludzi są obecne także naturalne AECA klasy IgG, które rozpoznają ograniczony zakres antygenów śródbłonkowych i mogą się pojawiać wtórnie do uszkodzenia EC [28]. Wykazują one działanie przeciwzapalne, hamując uwalnianie tromboksanu A₂, metaloproteinazy 9, endoteliny oraz zmniejszając odpowiedź śródbłonna na czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) [45].

W badaniach doświadczalnych prowadzonych w grupie chorych na SLE stwierdzono, że miano AECA koreluje ze stopniem aktywności choroby. Obserwacje te dotyczyły zwłaszcza chorych z objawami psychiatrycznymi i zajęciem ośrodkowego układu nerwowego (OUN) [33,50]. Zależności takich nie stwierdzono w odniesieniu do innych przeciwciał obecnych u tych chorych, takich jak przeciwciała antykardiolipinowe, skierowane przeciw β 2-glikoproteinie I, Ro 52, La, przeciw rybosomalnemu białku P, dsDNA i przeciw nukleosomom oraz z obecnością objawów psychiatrycznych [15]. Wykazano także korelację miana tych przeciwciał z aktywnością tocznicą nerkowego i obniżonym poziomem dopełniacza [18]. Badania ostatnich lat wskazują, że monoklonalne przeciwciała AECA (E3) izolowane od chorych na SLE rozpoznają proteinę błony komórkowej EC o ciężarze cząsteczkowym 42 kDa i wiążąc się z nią aktywują komórki śródbłonna poprzez wzrost ekspresji NF- κ B cząsteczki regulującej geny [1,59].

Powyższe dane wskazują na znaczenie komórek śródbłonna oraz kierowanych przeciwko nim przeciwciał w patogenezie systemowego uszkodzenia naczyń obserwowanego w SLE. Podkreślają także konieczność prowadzenia dalszych badań, które mogą być wykorzystane nie tylko do oceny klinicznej i prognozowania przebiegu choroby, ale również w projektowaniu nowych modeli terapeutycznych i ocenie skuteczności stosowanego leczenia.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Abbot N.J., Mendonca L.L., Dolman D.E.: The blood-brain barrier in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2003; 12: 908–915
- [2] Adhami E.: Calculating the etiology of systemic lupus erythematosus. *Med. Hypotheses*, 2004; 62: 237–246
- [3] Aird W.C.: Endothelial cell heterogeneity. *Crit. Care. Med.*, 2003; 31 (4 Suppl.): S221–S230
- [4] Bahlmann F.H., De Groot K., Spandau J.M., Landry A.L., Hertel B., Duckert T., Boehm S.M., Menne J., Haller H., Fliser D.: Erythropoietin regulates endothelial progenitor cells. *Blood*, 2004; 103: 921–926
- [5] Belizna C., Tervaert J.W.: Specificity, pathogenicity, and clinical value of antiendothelial cell antibodies. *Semin. Arthritis Rheum.*, 1997; 27: 98–109
- [6] Bergers G., Benjamin L.E.: Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat. Rev. Cancer*, 2003; 3: 401–410
- [7] Blander J.M., Medzhitov R.: Regulation of phagosome maturation by signals from toll-like receptors. *Science*, 2004; 304: 1014–1018
- [8] Bordron A., Revelen R., D'Arbonneau F., Dueymes M., Renaudineau Y., Jamin C., Youinou P.: Functional heterogeneity of anti-endothelial cell antibodies. *Clin. Exp. Immunol.*, 2001; 124: 492–501
- [9] Bradley J.R., Lockwood C.M., Thiru S.: Endothelial cell activation in patients with systemic vasculitis. *Q.J.M.*, 1994; 87: 741–745
- [10] Carson C.W., Beall L.D., Hunder G.G., Johnson C.M., Newman W.: Serum ELAM-1 is increased in vasculitis, scleroderma and systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.*, 1993; 20: 809–814
- [11] Carvalho D., Savage C.O., Black C.M., Pearson J.D.: IgG anti-endothelial cell antibodies from scleroderma patients induce leukocyte adhesion to human vascular endothelial cells *in vitro*. Induction of adhesion molecule expression and involvement of endothelium-derived cytokines. *J. Clin. Invest.*, 1996; 97: 111–119
- [12] Chung C.P., Oeser A., Avalos L., Raggi P., Stein C.M.: Cardiovascular risk scores and the presence of subclinical coronary artery atherosclerosis in women with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 2006; 15: 562–569
- [13] Cines D.B., Pollak E.S., Buck C.A., Loscalzo J., Zimmerman G.A., McEver R.P., Pober J.S., Wick T.M., Konkle B.A., Schwartz B.S., Barnathan E.S., McCrae K.R., Hug B.A., Schmidt A.M., Stern D.M.: Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*, 1998; 91: 3527–3561
- [14] Clancy R., Marder G., Martin V., Belmont M.H., Abramson S.B., Buon J.: Circulating activated endothelial cells in systemic lupus erythematosus: further evidence for diffuse vasculopathy. *Arthritis Rheum.*, 2001; 44: 1203–1208

- [15] Conti F., Alessandri C., Bompane D., Bombardieri M., Spinelli F.R., Rusconi A.C., Valesini G.: Autoantibody profile in systemic lupus erythematosus with psychiatric manifestations: a role for anti-endothelial cell antibodies. *Arthritis Res. Ther.*, 2004; 6: R366–R372
- [16] D’Cruz D.: Vasculitis in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 1998; 7: 270–274
- [17] D’Cruz D.P., Houssiau F.A., Ramirez G., Baguley E., McCutcheon J., Vianna J., Haga H.J., Swana G.T., Khamashta M.A., Taylor J.C., et al.: Antibodies to endothelial cells in systemic lupus erythematosus: a potential marker for nephritis and vasculitis. *Clin. Exp. Immunol.*, 1991; 85: 254–261
- [18] D’Cruz D.P., Khamashta M.A., Hughes G.R.: Systemic lupus erythematosus. *Lancet*, 2007; 369: 587–596
- [19] Del Papa N., Guidali N., Sala A., Buccellati C., Khamashta M.A., Ichikawa K., Koike T., Balestrieri T., Tincani A., Hughes G.R., Meroni P.L.: Endothelial cell as target for antiphospholipid antibodies. Human polyclonal and monoclonal anti- β 2-glycoprotein I antibodies react *in vitro* with endothelial cell through adherent β 2-glycoprotein I and induce endothelial activation. *Arthritis Rheum.*, 1997; 40: 551–561
- [20] Del Papa N., Guidali N., Spatola L., Bonara P., Borghi M.O., Tincani A., Balestrieri G., Meroni P.L.: Relationship between anti-phospholipid and anti-endothelial cell antibodies III: β 2-glycoprotein I mediates the antibody binding to endothelial membranes and induces the expression of adhesion molecules. *Clin. Exp. Rheumatol.*, 1995; 13: 179–185
- [21] Del Papa N., Raschi E., Moroni G., Panzeri P., Borghi M.O., Ponticelli C., Tincani A., Balestrieri G., Meroni P.L.: Anti-endothelial cell IgG fractions from systemic lupus erythematosus patients bind to human endothelial cells and induce a pro-adhesive and a pro-inflammatory phenotype *in vitro*. *Lupus*, 1999; 8: 423–429
- [22] Dignat-George F., Sampol J.: Circulating endothelial cells in vascular disorders: new insights into an old concept. *Eur. J. Haematol.*, 2000; 65: 215–220
- [23] Fürstenberger G., von Moos R., Lucas R., Thürlimann B., Senn H., Hamacher J., Boeneberg E.M.: Circulating endothelial cells and angiogenic serum factors during neoadjuvant chemotherapy of primary breast cancer. *British J. Cancer*, 2006; 94: 524–531
- [24] Garlanda C., Dejana E.: Heterogeneity of endothelial cells. Specific markers. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1997; 17: 1193–1202
- [25] Gilkeson G., Cannon C., Oates J., Reilly C., Goldman D., Petri M.: Correlation of serum measures of nitric oxide production with lupus disease activity. *J. Rheumatol.*, 1999; 26: 318–324
- [26] Gryglewski R.J., Botting R.M., Vane J.R.: Mediators produced by the endothelial cell. *Hypertension*, 1988; 12: 530–548
- [27] Hochberg M.C.: Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 1997; 40: 1725
- [28] Kluz J., Adamiec R., Tubek S.: The role of anti-endothelial cell antibodies of vascular complications in systemic lupus erythematosus. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2004; 111: 727–734
- [29] Lin Y., Weisdorf D.J., Solovey A., Hebbel R.P.: Origins of circulating endothelial cells and endothelial outgrowth from blood. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 71–77
- [30] Mantovani A., Bussolino F., Dejana E.: Cytokine regulation of endothelial cell function. *FASEB J*, 1992; 6: 2591–2599
- [31] Meroni P.L., D’Cruz D., Khamashta M., Youinou P., Hughes G.R.: Anti-endothelial cell antibodies: only for scientists or for clinical too? *Clin. Exp. Immunol.*, 1996; 104: 199–202
- [32] Meroni P.L., Raschi E., Testoni C., Tincani A., Balestrieri G., Molteni R., Khamashta M.A., Tremoli E., Camera M.: Statins prevent endothelial cell activation induced by antiphospholipid (anti-beta 2-glycoprotein I) antibodies: effect on the proadhesive and proinflammatory phenotype. *Arthritis Rheum.*, 2001; 44: 2870–2878
- [33] Meroni P.L., Tincani A., Sepp N., Raschi E., Testoni C., Corsini E., Cavazzana I., Pellegrini S., Salmaqqi A.: Endothelium and the brain in CNS lupus. *Lupus*, 2003; 12: 919–928
- [34] Moses MA.: The regulation of neovascularization of matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Stem. Cells*, 1997; 15: 180–189
- [35] Neng Lai K., Leung J.C., Bik Lai K., Li P.K., Lai C.K.: Anti-DNA autoantibodies stimulate the release of interleukin-1 and interleukin-6 from endothelial cells. *J. Pathol.*, 1996; 178: 451–457
- [36] Nikolic-Paterson D.J., Main I.W., Lan H.Y., Hill P.A., Atkins R.C.: Adhesion molecules in glomerulonephritis. *Springer Semin. Immunopathol.*, 1994; 16: 3–22
- [37] Pearson J.D.: Normal endothelial cell function. *Lupus*, 2000; 9: 183–188
- [38] Pierangeli S.S., Colden-Stanfield M., Liu X., Barker J.H., Anderson G.L., Harris E.N.: Antiphospholipid antibodies from antiphospholipid syndrome patients activate endothelial cells *in vitro* and *in vivo*. *Circulation*, 1999; 99: 1997–2002
- [39] Raffi S.: Circulating endothelial precursors: mystery, reality, and promise. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 17–19
- [40] Raffi S., Heissing B., Hattori H.: Efficient mobilization and recruitment of marrow-derived endothelial and hematopoietic stem cells by adenoviral vectors expressing angiogenic factors. *Gene Therapy*, 2002; 9: 631–641
- [41] Rajagopalan S., Somers E.C., Brook R.D., Kehrer C., Pfenninger D., Lewis E., Chakrabarti A., Richardson B.C., Sheldon E., McCune W.J., Kaplan M.J.: Endothelial cell apoptosis in systemic lupus erythematosus: a common pathway for abnormal vascular function and thrombosis propensity. *Blood*, 2004; 103: 3677–3683
- [42] Renaudineau Y., Grunebaum E., Krause I., Praprotnik S., Revelen R., Youinou P., Blanks M., Gilburd B., Sherer Y., Luderschmidt C., Eldor A., Weksler B., Gershwin E.M., Shoenfeld Y.: Anti-endothelial cell antibodies (AECA) in systemic sclerosis-increased sensitivity using different endothelial cell substrates and association with other autoantibodies. *Autoimmunity*, 2001; 33: 171–179
- [43] Ribatti D.: The involvement of endothelial progenitor cells in tumor angiogenesis. *J. Cell Mol. Med.*, 2004; 8: 294–300
- [44] Ribatti D., Nico B., Vacca A., Roncali L., Dammacco F.: Endothelial cell heterogeneity and organ specificity. *J. Hematother. Stem. Cell. Res.*, 2002; 11: 81–90
- [45] Ronda N., Leonardi S., Orlandini G., Gatti R., Bellosta S., Bernini F., Borghetti A.: Natural anti-endothelial cell antibodies (AECA). *J. Autoimmun.*, 1999; 13: 121–127
- [46] Saadi S., Platt J.L.: Transient perturbation of endothelial integrity induced by natural antibodies and complement. *J. Exp. Med.*, 1995; 181: 21–31
- [47] Seidel M., Fiszler D., Kurpisz M.: Endotelialna syntaza tlenku azotu Cz. II. Funkcja biologiczna. *Post. Biol. Kom.*, 2004; 31: 477–488
- [48] Sgone R., Gruschwitz M.S., Boeck G., Sepp N., Gruber J., Wick G.: Endothelial cell apoptosis in systemic sclerosis is induced by antibody dependent cell-mediated cytotoxicity via CD95. *Arthritis Rheum.*, 2000; 43: 2550–2562
- [49] Sjöwall C., Bengtsson T., Skogh T.: CRP and Anti-CRP Autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Curr. Rheum. Rev.*, 2005; 1: 81–89
- [50] Song J., Park Y.B., Lee W.K., Lee K.H., Lee S.K.: Clinical associations of anti-endothelial cell antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatol. Int.*, 2000; 20: 1–7
- [51] Tintore M., Fernandez A.L., Rovira A., Martinez X., Direskeneli H., Khamashta M., Schwartz S., Codina A., Montalban X.: Antibodies against endothelial cells in patients with multiple sclerosis. *Acta Neurol. Scand.*, 1996; 93: 416–420
- [52] Van der Zee J.M., Siebert C.E., de Vreede T.A., Daha M.R., Breedveld F.C.: Characterisation of anti-endothelial cell antibodies in systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin. Exp. Immunol.*, 1991; 84: 238–244
- [53] Vapaatalo H., Mervaala E.: Clinically important factors influencing endothelial function. *Med. Sci. Monit.*, 2001; 7: 1075–1085
- [54] Ward M.M.: Premature morbidity form cardiovascular and cerebrovascular disease in women in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*, 1999; 42: 338–346
- [55] Wellicome S.M., Kapahi P., Mason J.C.: Detection of a circulating form of vascular cell adhesion molecule-1: raised levels in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Immunol.*, 1993; 92: 412–418
- [56] Williams J.M., Colman R., Brookes C.J., Savage C.O., Harper L.: Anti-endothelial cell antibodies from lupus patients bind to apoptotic endothelial cells promoting macrophage phagocytosis but do not induce apoptosis. *Rheumatol.*, 2005; 44: 879–884
- [57] Woywodt A., Bahlmann F.H., De Groot K., Haller H., Haubitz M.: Circulating endothelial cells: life, death, detachment and repair of the endothelial cell layer. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2002; 17: 1728–1730
- [58] Woywodt A., Streiber F., de Groot K., Regelsberger H., Haller H., Haubitz M.: Circulating endothelial cells as markers for ANCA-associated small-vessel vasculitis. *Lancet*, 2003; 361: 206–210
- [59] Yazici Z.A., Raschi E., Patel A., Testoni C., Borghi M.O., Graham A.M., Meroni P.L., Lindsey N.: Human monoclonal anti-endothelial cell IgG derived from systemic lupus erythematosus patient binds and activates human endothelium *in vitro*. *Int. Immunol.*, 2001; 13: 349–357