



Erika Gucciardo, Timo A. Lehti, Ani Korhonen, Petri Salvén, Kaisa Lehti\*, Michael Jeltsch\* ja Sirpa Loukovaara\*

## Imusuonet ja silmä

Imusuonijärjestelmä ylläpitää elimistön kudosten homeostaasia ja immuunipuolustusjärjestelmää. Se osallistuu myös moniin patologiisiin prosesseihin, kuten syöpään, verisuonitauteihin ja neurodegeneratiivisiin sairauksiin. Imusuonijärjestelmän tutkimuksessa on yhä monia epäselviä ja kiistanalaisia aiheita. Viime aikoina on kuitenkin myös selvinnyt paljon – esimerkiksi imusuonten olemassaolo aivokalvoilla ja Schlemmin kanavan imusuonimaisuus. Imusuonimaisia rakenteita on lisäksi havaittu diabeteksen vaikeimmassa silmäkomplikaatiossa, proliferaatiivisessa diabeettisessa retinopatiassa (PDR). PDR-silmän patologista uudisverisuonten kasvua hoidetaan laserilla sekä glukokortikoidi- ja kasvutekijänestäjäruiskeilla, jotka eivät kuitenkaan auta kaikissa tapauksissa. Imusuonimaiset rakenteet saattavat osaltaan selittää eriäviä hoitovasteita. Uusi tieto mahdollistaa kohdennettavien hoitojen kehittämisen imusuonijärjestelmän häiriöihin ja muihin tauteihin, joihin liittyy imusuonten uudismuodostusta.

Samalla kun verenkiertojärjestelmän suuriin kysymyksiin on vuosisatojen aikana löydetty vastauksia, on kudosten keräävä sekä immuunisolujen kiertoon ja pitkäketjuisten rasvahappojen imeytymiseen osallistuva imusuonijärjestelmä pysynyt arvoituksellisenä ja tieteellisen väittelyn kohteena. Täsmennyksiä ja muutoksia on vasta hyvin äskettäin saatu niinkin yksinkertaisiin kysymyksiin kuin kuinka imusuonijärjestelmä kehittyy ja missä elimissä imusonia esiintyy (1–5). Viimeaikaisista saavutuksista huolimatta vastauksia moniin potilaankin kannalta tärkeisiin kysymyksiin ei vielä ole löydetty – esimerkiksi imunesteturvotuksen (lymfödeeman) ja kivuliaan rasvakudosoireyhtymän (lipödeeman) välinen yhteys on yhä epäselvä. Imusuonijärjestelmän ongelmiin onkin käytössä lähinnä oireisiin keskittyviä hoitokeinoja (6).

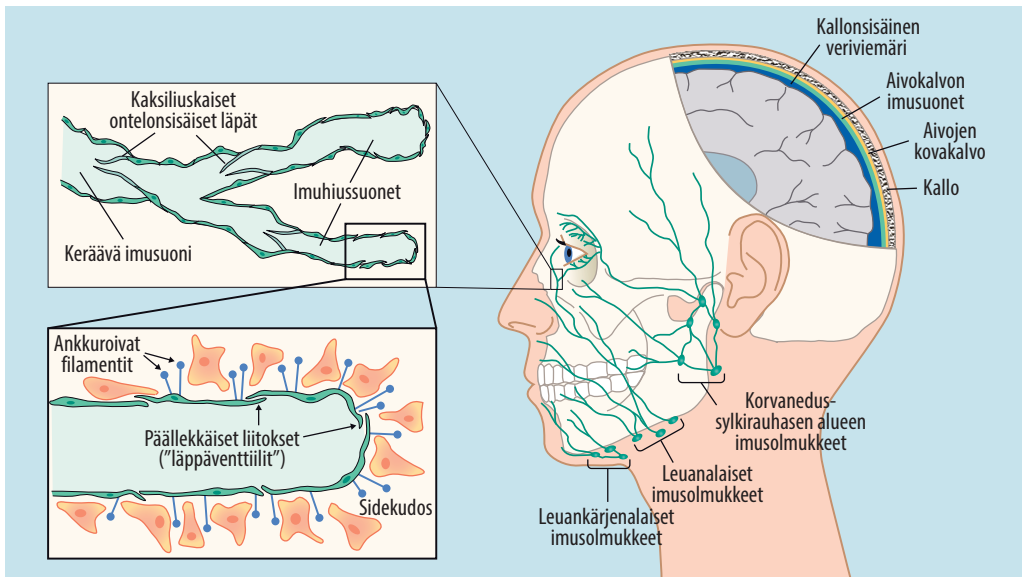
Kiinnostus kudosten homeostaasia ja elimistön immuunipuolustusta ylläpitävää imusuonijärjestelmää kohtaan on suuresti lisää-

tynyt viime vuosina. Imusuoniston on todettu liittyvän monisyisesti moniin kansanterveydellisesti merkittäviin pitkäaikaisiin tauteihin, esimerkiksi syöpään, sydän- ja verisuonitauteihin, diabetekseen sekä neurodegeneratiivisiin ja tulehduksellisiin sairauksiin kuten reumaan (7,8).

Imusuonijärjestelmään liittyvät biolääketieteellisen perustutkimuksen saavutukset, kuten aivokalvojen imusuonten löytäminen ja edistys lymfaattisen uudisusuonimuodostuksen eli lymfangiogeneesin molekulaaristen mekanismien ymmärtämisessä, ovat jo paljastaneet uusia lupaavia lääkekohteita neurodegeneratiivisten sairauksien ja syövän hoitoon (2,3,9–11). Lisäksi silmän kammionesteen ulosvirtausjärjestelmälle tärkeällä Schlemmin kanavalla on hiljattain havaittu olevan useimpia imusuonen molekulaarisia ja toiminnallisia ominaisuuksia (12). Glaukooman yhteydessä vähentynyt ulosvirtaus johtaa Schlemmin kanavan degeneraatioon ja imusuonen kaltaisen rakenteen menetykseen (13).

Tutkimuksen uusista edistysaskelista huolimatta tietämyksemme imusuonijärjestelmän

\**samanarvoinen osuus*



**KUVA 1.** Pään ja kaulan alueen imusuonijärjestelmä. Ankkuroivilla filamenteilla sidekudokseen kiinnittyneet imusuonen endoteelisolut muodostavat ohutseinäisiä, läppäliitoksia sisältäviä imuhiussuonia eli lymfaattisia kapillaareja, joiden soluväleistä keräämä imuneste laskee kerääviin imusuoniin. Silmän alueelta yhteen suuntaan virtaava imuneste kulkeutuu pään ja kaulan imusolmukkeisiin, kuten korvasylkirauhaseen liittyviin, korvalehden edessä sijaitseviin sekä leuanalaisiin ja leuankärjenalaisiin imusolmukkeisiin. Imunestettä suodattavat imusolmukkeet ovat keskeisiä immuunivasteiden käynnistymisessä, sillä ne toimivat antigeeneja esittelevien solujen ja naivien valmiiksi kypsyneiden mutta aktivoitumattomien imusolujen kohtauspaikkana. Imuneste palautuu lopulta imusolmukkeista verenkiertoon. Tämä tapahtuu vasemmanpuoleisen yläruumiin ja alaruumiin osalta vasemman solislaskimon kautta ja oikeanpuoleisen yläruumiin osalta oikean solislaskimon kautta.

anatomiaa sekä toiminnasta on vielä puutteellista ja osin kiistanalaistakin, varsinkin silmän imusuonien osalta (5).

### Imusuonet silmän rakenteissa

Silmän ympäristön imuhiussuonet ovat yhteydessä pään ja kaulan alueen imusuoniin sekä imusolmukkeisiin (**KUVA 1**). Silmän imusuoniston tunnistamiseen liittyvien imusuonimerkkiaineiden (VEGFR-3, Lyve1, Prox1, PDPN) suositusten osalta virallinen konsensus syntyi vasta hiljattain (**TAULUKKO**) (14). Kirjoituksessa käytettäviä lyhenteitä on koottu **TIETOLAATIKOON**.

Aikuisen silmästä on normaalitilassa löydetty imusuonistoa sidekalvolta, sarveiskalvon reunalta, värikalvolta (iiris), sädekehästä ja silmäkuopan aivokalvoista (**KUVA 2**). Imusuonimerkkiainepositiivisia suonia ei normaalitilassa ole löydetty verkkokalvosta, kovakalvosta tai sarveiskalvosta, mutta kovakalvo ja sarveiskalvo sisältävät kuitenkin Lyve1-positiivisia

makrofageja. Myös suonikalvosta on löydetty Lyve1-positiivisia makrofageja, mutta imusuonten olemassaolo suonikalvossa on yhä kiistanalainen aihe (15).

Endoteelin vuoraama Schlemmin kanava ympäröi sarveiskalvoa värikanalon tyvessä ja tarjoaa väylän kammionesteen virtaukseen pois etukammioista. Schlemmin kanavan endoteelisolut ilmentävät imusuonistolle tyypillistä Prox1-merkkiainemolekyyliä, ja kanavaa pidetäänkin imusuonen kaltaisena suonena.

### Imusuonet silmänsairauksissa

Patologista imusuonimuodostusta ihmissilmässä on aikaisemmin kuvattu monien sairauksien ja vammojen yhteydessä (**KUVA 3**) (16–18,20). Silmän avovammoissa imusuonia voi muodostua silmän normaalisti imusuonettomiin osiin, kuten kovakalvoon ja sarveiskalvoon (16). Sarveiskalvon imusuonimuodostusta voi esiintyä myös sarveiskalvosiirteen hyljinnän yhteydessä, jos siirto on tehty potilaalle, jolla on sarveis-

**TAULUKKO.** Patologiseen uudissuoni- ja imusuonikehitykseen liittyviä merkkiaineita ja tekijöitä (14,15,23,27).

	Merkkiaine tai tekijä	Imusuonimerkkiaineita (14)	Imusuoniston kehitystä in vivo edistäviä tekijöitä (15)	PDR:n yhteydessä (lasiaisnäytteissä) lisääntyneitä	
				Angiogeneesiä edistäviä tekijöitä (15,23,27)	Tulehdustekijöitä (15)
<b>Reseptorit</b>	Lyve1	✓			
	PDPN	✓			
	VEGFR-3	✓	✓		
	VEGFR-2		✓		
<b>Transkriptio-tekijät</b>	Prox1	✓			
	HIF-1α			✓	
<b>Kasvutekijät</b>	VEGF-A		✓	✓	
	VEGF-C		✓		
	VEGF-D		✓		
	Ang2		✓	✓	
	PDGF			✓	
	TGF-β			✓	
	bFGF		✓	✓	
	EPO			✓	
<b>Soluväliaineen proteiinit</b>	OPN			✓	
	CYR61			✓	
<b>Proteaasit</b>	MMP2		✓	✓	
	MMP9		✓	✓	
<b>Sytokiinit</b>	SDF1			✓	
	TNFα		✓		✓
	IL-1β		✓		✓
	IL-6				✓
	IL-8				✓
	IL-10				✓
	IL-18				✓
	MCP1				✓
	MIF				✓
	M-CSF				✓
<b>Muut tekijät</b>	HMGB1-proteiini				✓
	NLRP3-inflamasomi		✓		✓

PDR = proliferatiivinen diabeettinen retinopatia

kalvolla valmiiksi tulehdusta ja verisuonitusta (17,18).

Herpes simplex -virusinfektio voi aiheuttaa sarveiskalvotulehduksen (herpeskeratiitti), joka voi vakavissa tapauksissa johtaa veri- ja imusuonten muodostumiseen sarveiskalvossa.

Imusuonirakenteet voivat säilyä sarveiskalvolla myös infektion päätyttyä (17,18). Myös liian vähäisen tai liian nopeasti haihtuvan kyynelnesteen aiheuttama sarveiskalvon lievä tulehdustila eli silmien kuivuus (DED) voi vakavissa tapauksissa johtaa imusuonten muodostumiseen

sarveiskalvoon ilman verisuonten muodostumista, joskaan mekanismeja ei vielä tunneta (17,18).

Lisäksi silmään voi kehittyä monenlaisia kasvaimia, joihin voi paikan ja solutyypin mukaan liittyä patologista imusuonimuodostusta. Sitä on löydetty sekä sidekalvon levyepiteelikarsinooman että sidekalvon melanooman ja silmän ulkopuolelle ulottuvan sädekehän melanooman yhteydessä (15,17,18).

Häiriöt Schlemmin kanavan toiminnassa voivat estää kammionesteen normaalia ulosvirtausta ja siten lisätä silmänpaineen nousun sekä glaukooman kehittymisen riskiä (19). Imusuonirakenteita on löydetty myös näköhermon alueelta glaukooman takia poistetuista silmistä. Kahteen silmän takaosan uudissuonittumis- eli neovaskularisaatiosairauteen, prolifera-

ratiiviseen diabeettiseen retinopatiaan (PDR) ja silmän osittaiseen keskuslaskimotukokseen (hemi-CRVO), on äskettäin todettu liittyvän imusuonen kaltaisten suonten muodostumista (15,20–22). Kun silmän takaosan normaalisti imusuonettomiin kudoksiin kehittyy turvotusta (ödeemaa) ja kroonista tulehdusta, imusuonten kaltaisten rakenteiden muodostus saattaa helpottaa nesteen poistoa ja immuunisolujen kuljetusta.

## Imusuonten kaltaisten suonten muodostuminen diabeetikon vaikeassa verkkokalvosairaudessa

Työikäisten (18–64-vuotiaat) kuudenneksi yleisin näkövammaisuuden aiheuttaja Suomessa on diabeettinen retinopatia, tyypillisesti sen proli-

### TIETOLAATIKKO. Käytetyt lyhenteet.

ADAMTS3 = trombospondiinirakenteinen disintegrini- ja metalloproteiinaasi 3 (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs 3)

Ang1, -2 ja -4 = angiopoietiini 1, 2 ja 4

CYR61 = runsaskysteiininen angiogeeninen indusoija 61 (cysteine-rich angiogenic inducer 61)

DED = silmien kuivuus (dry eye disease)

bFGF = emäksinen fibroblastikasvutekijä (basic fibroblast growth factor)

CRVO = verkkokalvon keskuslaskimon tukos (central retinal vein occlusion)

CYR61 = runsaskysteiininen angiogeeninen indusoija 61

EGF = epidermaalinen kasvutekijä

EPC = endoteeliesisolu (endothelial progenitor cell)

EPO = erytropoietiini

HIF-1 $\alpha$  = hapenpuutteen aktivoima transkriptiotekijä 1 alfa (hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ )

HMGB1 = high mobility group box 1 -proteiini

HSV-1 = Herpes simplex -virus 1

IL = interleukiini

LEC = imusuonen endoteelisolu (lymphatic endothelial cell)

Lyve1 = imusuonen endoteelisoluille spesifinen hyaluronireseptori 1 (lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1)

MCP1 = monosyyttien kemoattraktanttiproteiini 1 (monocyte chemoattractant protein 1)

MIF = makrofagien migraatiota estävä tekijä (macrophage migration inhibitory factor)

M-CSF = makrofagikasvutekijä (macrophage colony stimulating factor)

M-LECP = makrofagiperäinen LEC-esiaste (macrophage-derived LEC precursor)

MMP = matriksin metalloproteiinaasi

NLRP3 = NLR-perheeseen kuuluva pyriini-domeenin sisältävä proteiini 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-, leucine-rich repeat and pyrin domain-containing protein 3)

NRP1, -2 = neuropiliini 1 ja 2

OPN = osteopontiini

PDR = proliferaatiivinen diabeettinen retinopatia

PDGF = verihiutaleperäinen kasvutekijä (platelet derived growth factor)

PDPN = podoplaniini

PLGF = istukkakasvutekijä (placental growth factor)

Prox1 = prospero homeobox -proteiini 1

PSA = prostataspesifinen antigeeni

RNA = ribonukleiinihappo

SDF1 = stroomasoluperäinen tekijä 1 (stromal cell-derived factor 1)

Sema3A = semaforiini 3A

TIE1, -2 = immunoglobuliini- ja EGF-domeeniset tyrosiinkinaasireseptorit 1 ja 2 (tyrosine kinase receptor with immunoglobulin and epidermal growth factor homology domains 1, 2)

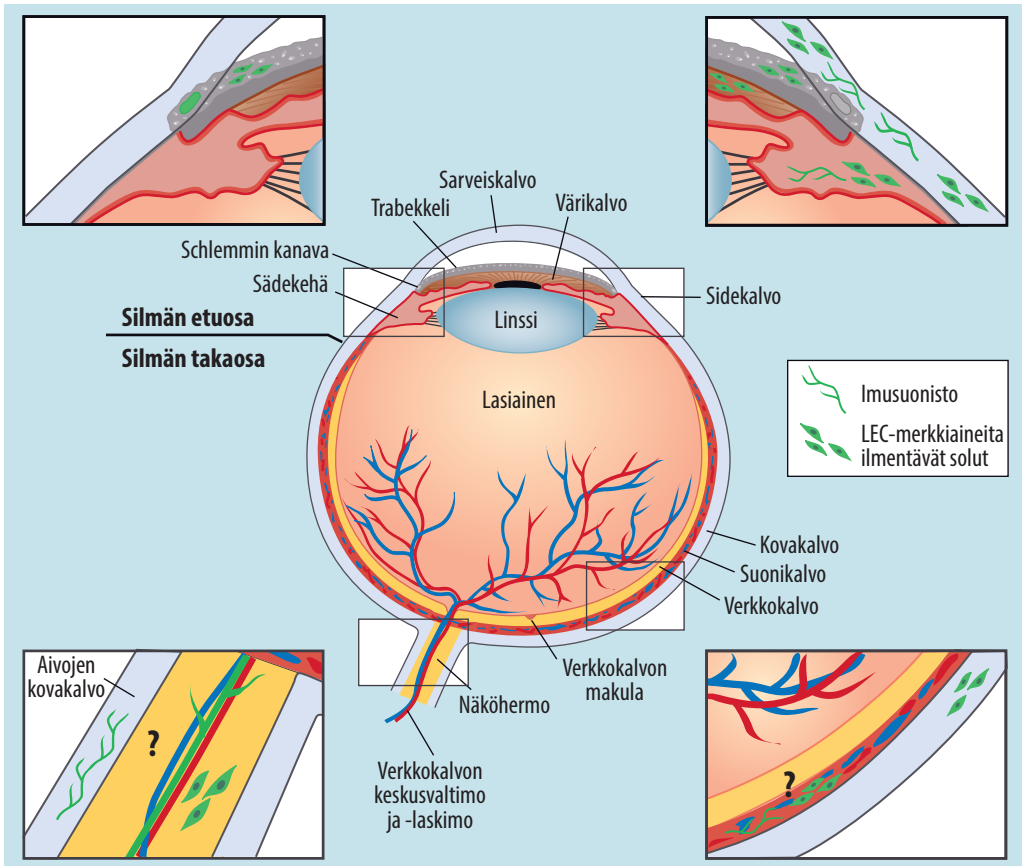
TGF- $\beta$  = transformoiva kasvutekijä beeta

TNF $\alpha$  = tuumorinekroositekijä alfa

VEGF-A, -B, -C, ja -D = verisuonten endoteelikasvutekijät A–D

VEGFR-1, -2, ja -3 = endoteelikasvutekijäreseptorit 1–3

VESC = verisuonen endoteelikantasolu (vascular endothelial stem cell)



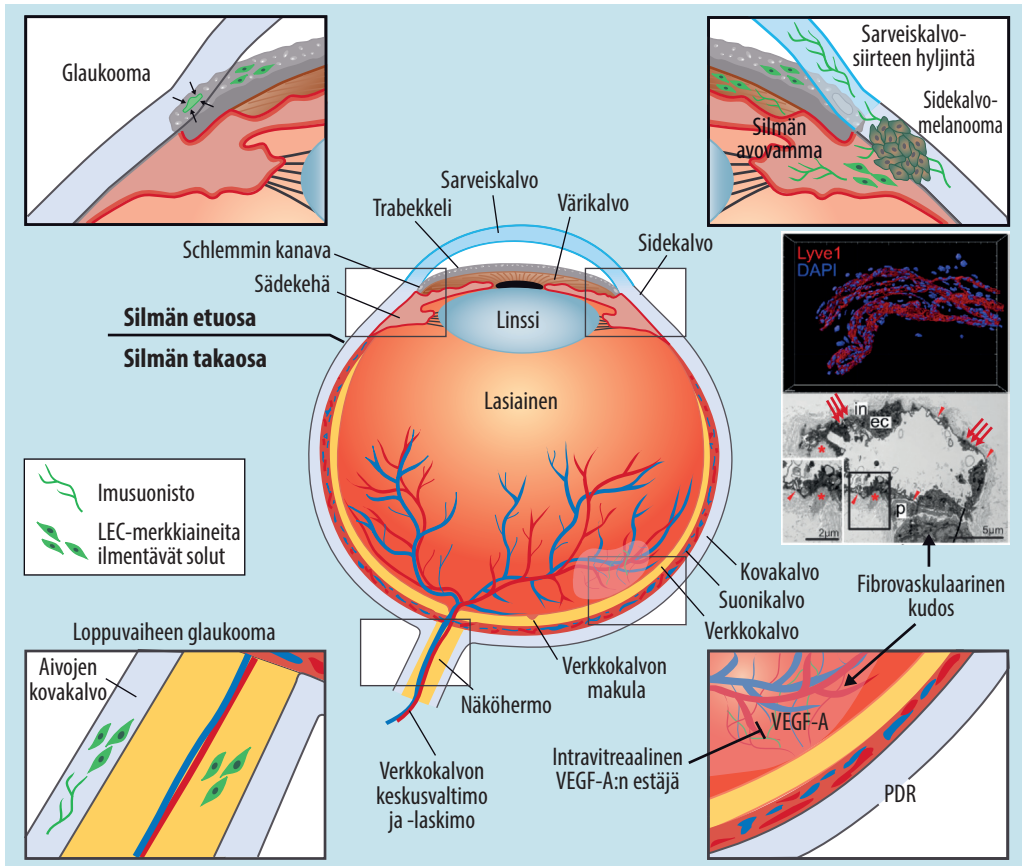
**KUVA 2.** Imusuoimet normaalin silmän rakenteissa. Imusuoimia on johdonmukaisesti löydetty aikuisen silmän sidekalvosta, värikalvosta, sarveiskalvon ja sidekalvon rajalta (limbusalueelta), sädekehästä ja silmäkuopan aivokalvoista. Sen sijaan LEC-merkkiaineiden puuttumisen perusteella katsotaan, että verkkokalvossa, kovakalvossa ja sarveiskalvossa ei ole imusuoimia. Kovakalvo ja sarveiskalvo sisältävät tyypillisten imusuoimien puuttumisesta huolimatta Lyve1-positiivisia makrofageja. Suonikalvossa ei yleisesti katsota esiintyvän imusuoimia, mutta Lyve1-positiivisia makrofageja on löydetty myös suonikalvosta. Imusuoimirakenteiden olemassaolo näköhermon alueella ja suonikalvossa on kiistanalainen aihe, minkä vuoksi kuvassa on kysymysmerkit. Endoteelin vuoraama, sarveiskalvoa kiertävä Schlemmin kanava taas on toimintonsa ja Prox1-merkkiaineen ilmentämisensä perusteella äskettäin tunnistettu imusuoimen kaltaiseksi suoneksi (12,15).

feratiivinen tautimuoto. Vaikea PDR on monitekijäinen silmänsairaus, jonka syntyyn osallistuvat muun muassa mikrovaskulaariset, neurodegeneratiiviset, metaboliset, geneettiset tai epigeneettiset ja tulehdukselliset mekanismit.

Diabeetikon silmässä pitkäkestoinen hapenpuute ja krooninen lievä tulehdus johtavat verisuonten uudismuodostumiseen eli angiogeneesiin verkkokalvolla, näköhermon nystyssä ja kammiokulmassa (uudissuoniglaukooma) (23,24). Vaikean diabeettisen retinopatian ensilinjan hoitomuotoina käytetään verkkokalvon laserhoitoa sekä silmän lasiaiskudokseen ruiskeina annettavia glukokortikoideja, verisuon-

ten endoteelikasvutekijä A:n (VEGF-A) estäjiä tai niiden yhdistelmiä.

Vaikeimmat tautimuodot, joihin tyypillisesti liittyy lasiaisverenvuotoja verkkokalvon uudissuonista, sidekudosarpimuodostusta ja verkkokalvon vetojännitysirtaamaa, joudutaan leikkaamaan käyttämällä modernia lasiais- ja verkkokalvokirurgiaa. Kaikkein vaikeimman PDR-tautimuodon syntyyn näyttää liittyvän verisuonten uudismuodostuksen aikainen endoteelikantasolujen tai endoteelin esiasiesolujen aktivaatio sekä joissain tapauksissa imusuoimiston kaltaisten rakenteiden muodostuminen (20,22).



**KUVA 3.** Silmän imusuonet patologisissa tiloissa (15,20). Patologista uudisimusuonimuodostusta tapahtuu useissa silmän etuosaan liittyvissä taudeissa. Sitä esiintyy sarveiskalvosiiirteen hyljinnän yhteydessä sarveiskalvossa, sidekalvomelanooman yhteydessä uveoskleraalisen virtauksen rajalla ja sarveiskalvossa sekä kovakalvossa haavan paranemisen ja lävistävän silmävamman yhteydessä. PDPN-positiivisia suonirakenteita on löydetty myös loppuvaiheen glaukooman takia poistetuista silmistä. Ihmissilmän takaosan sairaustiloihin (PDR, hemi-CRVO) liittyvästä imusuonten kaltaisten suonirakenteiden kehityksestä raportoitiin hiljattain (20–22). Havainnot pohjautuivat immunohistokemiallisiin värjäyksiin, elektronimikroskopiaan sekä kolmiulotteiseen (3D) PDR:n ex vivo -kudosmalliin.

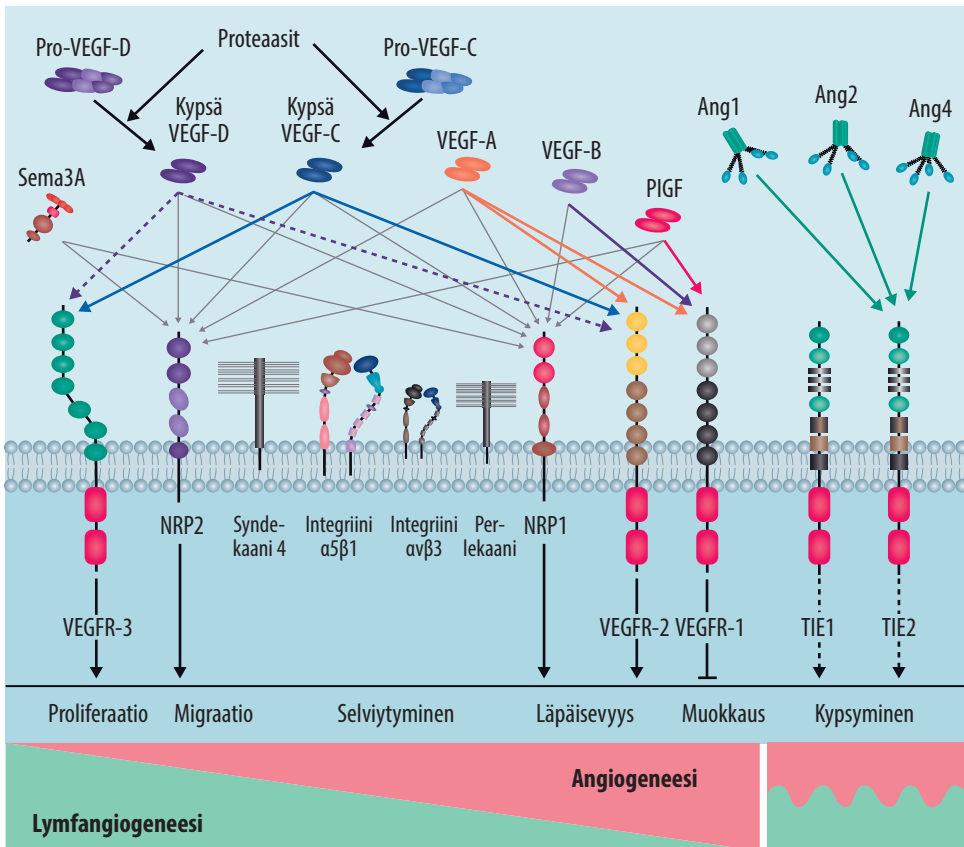
Oikealla puolella PDR-kudoksen 3D-immunofluoresenssivärjäyksessä Lyve1-positiivisia suonirakenteita. Lämpysyelektronimikroskooppikuva PDR-kudoksen poikkileikkauksesta esittää hiussuonimaisia rakenteita elektronitiheän soluväliaineen joukossa. Suonet koostuvat litteistä tai ulospäin pullistuvista endoteelisoluista, joita yhdistävät joko tiiviit liitokset tai limittäisyys (interdigitaatiot, sormimaisen muotoiset kalvon ulkonemat). Endoteelisoluista löytyi fenestraatioita (nuolenpäät), useita basaalisia invaginaatioita ja luminaalisia ulkonemia. Uudis-suonella on imusuonille tyypillisiä ominaisuuksia, kuten ohuet seinämät, perisytyttien poissaolo, epäjatkuva basaalin solukalvo (nuolet), päällekkäisiä liitoksia (in) ja ankkuroivia filamentteja (tähti).

### Lasiainen kasvutekijät ja sytokiinit PDR:n patofysiologiassa

Diabeetikon silmässä esiintyvään pitkään jatkuneeseen tulehdukseen ja pitkäkestoisesti suurentuneeseen verengluukoosipitoisuuteen liittyvät muun muassa oksidatiivinen stressi, lipoproteiinien hapettuminen sekä glykosyloituneiden lopputuotteiden ja vapaiden happi-

radikaalien synty (15). Nämä kaikki edistävät osaltaan PDR:n kehittymistä ja etenemistä. PDR:ssä voi samanaikaisesti olla aktivoitunee- na angiogeneesiä, tulehdusta ja imusuonimuodostusta (lymfangiogeneesiä) edistäviä ja ylläpitäviä, solunsisäisiä ja solujen välisiä signaalinvälitysmekanismia (15,23–25) (KUVA 4).

Monet tulehdus- ja kasvutekijät sekä tulehdussytokiinit, kemokiinit ja adheesiomole-



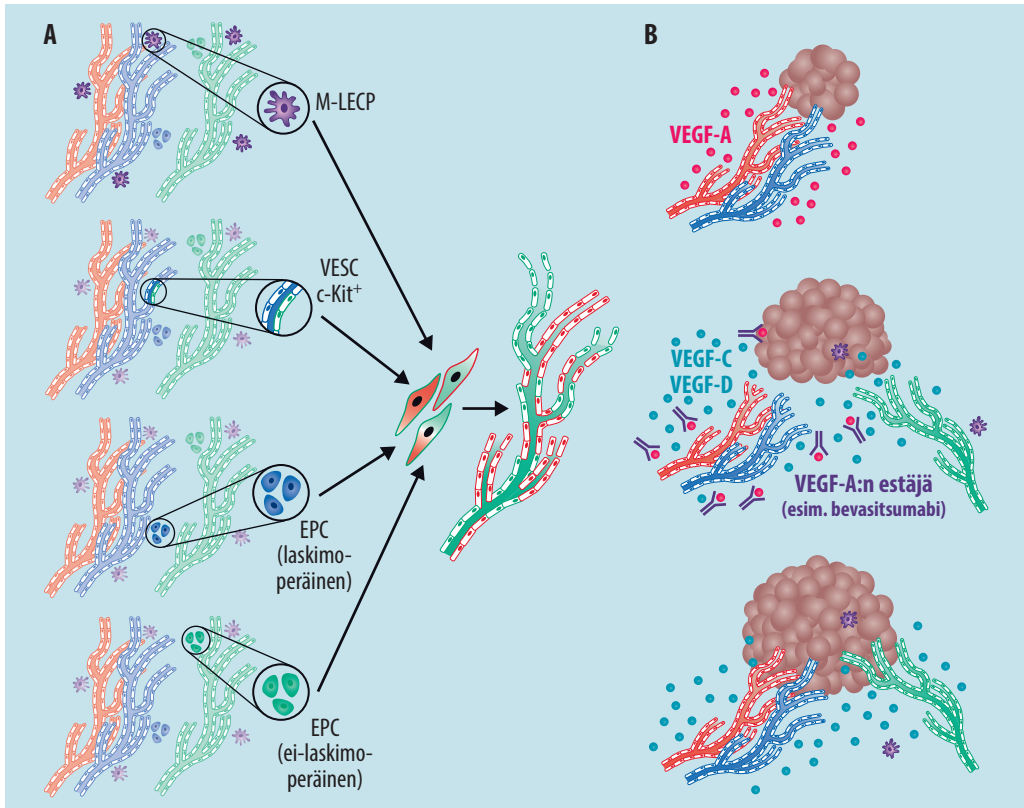
**KUVA 4.** Veri- ja imusuonten kasvua ja toimintaa säätelevät verisuonten endoteelikasvutekijät (VEGF) ja angiopoietiinit (Ang) sekä niiden pääosin endoteelisoluille spesifiset reseptorit. Angiopoietiinit sitoutuvat endoteelisolujen TIE2:een, joka yhdessä TIE1:n kanssa osallistuu veri- ja imusuonten kasvun ja toiminnan säätelyyn. VEGF-A on tärkein kasvutekijä verisuonille ja VEGF-C vastaavasti imusuonille. VEGF-A tunnistaa VEGF-reseptorit 1 ja 2 (VEGFR-1 ja -2), kun taas VEGF-C ja -D tunnistavat VEGFR-3:n (ja tietyissä olosuhteissa myös VEGFR-2:n). VEGFR-1:tä esiintyy yleensä vain verisuonten endoteelisoluissa ja VEGFR-3:a vain imusuonten endoteelisoluissa. VEGFR-2:ta löytyy kummankintyyppisistä suonista. VEGF-reseptoreja tukevat koreseptorit eli neuropiliinit (NRP), integriniit ja heparaanisolfaatti-proteoglykaanit stabiloivat reseptorien ja niihin sitoutuvien kasvutekijöiden välistä yhteisvaikutusta ja tehostavat signalointia. Toisin kuin VEGF-A ja -B sekä PIGF, lymfangiogeeniset VEGF-C ja -D syntyvät inaktiivisina proproteiineina, jotka täytyy aktivoida katkaisemalla spesifisillä proteaasientsyymeillä (esimerkiksi ADAMTS3, PSA, katepsiini D, plasmiini ja trombiini) ennen kuin ne voivat stimuloida imusuonten kasvua. ADAMTS3 toimii aktiivisena proteaasina alkionkehityksen aikana, mutta haavan paranemisessa ja patologisissa prosesseissa, kuten syövässä, useiden muiden proteaasien, kuten PSA:n ja katepsiini D:n, uskotaan vastaavan aktivaatiosta (10,25).

kyylit ovat merkityksellisiä PDR:n synnyssä (**TAULUKKO**) (26-28). Aktivoituneet verisuonten endoteelisolut ovat yksi näiden tekijöiden suurimmista lähteistä. Monet tekijöistä, jotka saattavat edistää angiogeneesiä PDR:n yhteydessä, voivat myös edistää imusuoniston kehitystä (**TAULUKKO**). Tulehduksen on osoitettu lisäävän VEGF-C:n ilmentymistä (29,30). Tulehduksessa paikalliset makrofagit voivat myös tuottaa

muun muassa VEGF-A:ta ja VEGF-C:tä sekä osaltaan lisätä angiogeneesiä ja lymfangiogeneesiä (31,32).

### Uudisimusuoniston mahdolliset muodostumismekanismit

Silmän takaosan sairauksien, kuten PDR:n ja hemi-CRVO:n yhteydessä silmiin kehittyvässä



**KUVA 5.** A) Patologisen imusuonimuodostuksen mahdolliset mekanismit. Patologinen imusuonisto muodostuu olemassa olevista imusuonista (patologinen lymfangiogeneesi) tai uudismuodostuksella eli de novo -mekanismilla (lymfavaskulogeneesi). Makrofagien (M-LECP) on esitetty vaikuttavan de novo -imusuonimuodostukseen. Vaihtoehtoisesti uudismuonista saattaa kehittyä verisuonen seinämän endoteelikantasolujen (VESC) transdifferenciaation kautta tai LEC-solukohtalon määrätymisen kautta laskimoverisuoniperäisistä tai rekrytoiduista luuydinperäisistä tai ei-laskimoperäisistä endoteeliesisolusta (EPC). B) Imusuonijärjestelmä osallistuu verisuonten uudismuodostuksen ohella useiden tautien patogeneesiin. Syöpäsolujen ja kasvaimen ympäristön tulehdusolujen erittämät verisuonikasvutekijät edistävät lymfaattista uudissuonittumista, johon verisuonten uudismuodostusta estävät lääkkeet (kuten VEGF-A:n tunnistava bevasitumabi) eivät tehoa. Laajentunut imusuoniverkosto toimii syöpäsolujen leviämisseitteinä emokasvaimen lähellä sijaitseviin imusolmukkeisiin, mikä voi mahdollistaa syöpäsolujen etenevän metastasoinnin.

verisuonten uudismuodostuksessa imusuoniston kaltainen (Lyve1-, Prox1- tai VEGFR-3-positiivinen) suonisto on liittynyt tyypillisesti näköhermon nystyn alueella olevaan patologiseen suonistoon (20–22). Siksi on mahdollista ja varsin todennäköistä, että tämä suonisto voisi olla yhteydessä aivokalvoiniin (kovakalvoon) (2,33).

Tulehdukseen keskeisesti liittyvät makrofaagit saattavat myös osallistua patologisen imusuoniston syntyyn silmän takaosassa de novo -mekanismilla eli muuttamalla imusuonen endoteelisolun esiasteiksi (M-LECP). Vaihtoehtoisesti c-Kit-positiiviset endoteelikantasolut voisivat muuntua imusuonistoa muistuttaviksi

si suonirakenteiksi PDR-silmissä (KUVA 5 A) (15,20,22,34).

### Diabeetikoiden silmien imusuonimuodostuksen tutkimus on vastikään lisääntynyt

Diabeetikon elinajan odote oli hyvin lyhyt ennen insuliinin kehittämistä vuonna 1921, eikä diabeetikon silmään liittyvä uudissuonittuminen ollut lääketieteellinen ongelma. Myös nykymuotoinen lasiaisi- ja verkkokalvokirurgia on varsin uusi hoitomuoto, sillä ensimmäinen ihmisen silmän vitrektomialeikkaus tehtiin vasta



vuonna 1970. Verisuonten uudismuodostukseen liittyvä tutkimus on edistynyt pitkälle vuosikymmenien aikana. Imusuonimuodostukseen liittyvä tutkimus sen sijaan on edistynyt selvästi hitaammin siksi, että imusuonten tutkiminen on verisuonten tutkimista selvästi hankalampaa.

Vasta kymmenen viime vuoden aikana pitkälle kehittyneet silmäkirurgiset leikkaustekniikat ja niihin liittyvä translationaalinen tutkimus ovat mahdollistaneet systemaattiset veri- ja imusuonibiologiset tutkimukset PDR:n ja hemi-CRVO:n osalta. Imusuonten kaltaisia rakenteita on aktiivisesti etsitty ja onnistuttu havaitsemaan elektronimikroskoopilla ja kohdennettujen immunohistokemiallisten värjäysten jälkeen valomikroskoopilla vasta vähän aikaa sitten (20,21).

## Nykyiset koe-eläinmallit eivät riitä

Diabetekseen liittyvä silmänsisäinen uudissuonittuminen on kehityksellisesti hidas prosessi. Tyypillisesti silmänsisäisten uudissuonimuutosten kehittyminen tyyppi 1 diabeetikolle vie 15–20 vuotta. Vaikka suonirakenteiden tutkiminen on helpottunut geenimuokattujen hiirten ansiosta, ei käytössä ole ainoatakaan koe-eläinmallia, jossa aidosti yhdistyisivät ihmisen silmän uudisverisuoni- ja uudisimusuonimuodostukseen liittyvät monitekijäiset tautimekanismit (35,36). Suomessa on tutkittu myös silmänpohjan kosteaan ikärappeumaan liittyvää uudissuonimekanismia hiirimallissa. Siitä toivotaan olevan hyötyä suonikalvon uudissuonimuutosten varhaisten vaiheiden sekä myöhempien fibrovaskulaaristen vaiheiden patologisten mekanismien ymmärtämisessä ja tulevaisuuden hoitomuotojen kehityksessä (37).

Uudissuonittumisen hoitoon on käytössä erilaisia VEGF-A:n estohoitoja, kuten humanisoitu monoklonaalinen vasta-aine bevasitsumabi ja siitä johdettu ranibitsumabi sekä ihmisen VEGFR-1:n ja -2:n solunulkoisia osia ja IgG1:n Fc-osaa yhdistävät fuusioproteiinit aflibersepti ja konbersepti. Tehokkaampien uusien yhdistelmähoitojen kehittäminen edellyttää veri- ja imusuonten syntyyn liittyvien tautimekanismien laajaa ja syvällistä ymmärtämistä.

## Uusi PDR:n kudostusmalli

Tutkimusryhmämme on julkaissut uuden ex vivo -PDR-kudostusmallin, jota voidaan hyödyntää sekä angiogeneesi- että lymfangiogeneesitutkimuksessa (22,38). Mallin avulla onnistuimme havaitsemaan Lyve1-, Prox1- sekä VEGFR-3-positiivisia rakenteita PDR-silmistä poistetuissa viljellyissä kudoksissa. Näitä tuloksia tukevat myös erilliset RNA-sekvensointilöydökset.

Osa poikkeavista suonirakenteista muistutti verisuonia ja osa kehittyneempiä imusuonten kaltaisia rakenteita. Uskomme, että tätä PDR:n ex vivo -mallia kannattaa jatkossakin käyttää kohdennetuissa hoitotutkimuskokeissa. Uudisverisuoni- ja uudisimusuonikasvuun liittyvän hankalan fibroosin esto on myös tärkeää, jotta vaikean PDR:n ennustetta voidaan parantaa (22). Vaikka ex vivo -kudostusmalli on arvokas uusi tutkimusmenetelmä, sen avulla ei esimerkiksi voida testata eikä optimoida in vivo -lääkkeitä kuin poikkeustapauksissa.

Kolmiulotteisen ex vivo -PDR-mallin jatkotutkimus on tarpeen, sillä tarjolla ei juuri ole muita käyttökelpoisia rakenteellisia ja toiminnallisia tutkimusvaihtoehtoja. Nykyisillä kaupallisilla silmän takaosan valokeroskuvaukseen perustuvilla angiografijärjestelmillä ei pystytty kuvantamaan riittävän tarkasti patologisia uudisverisuonirakenteita ja mahdollisia imusuonirakenteita (39). Tulevaisuudessa 7–10 teslan magneettikuvaus saattaa edistää ihmisen aivojen, niiden hyvin pienten verisuonimuutosten sekä silmän takaosan tautien patologisten veri- ja imusuonimuutosten tutkimusta (40).

## Tulevaisuuden hoitomuodot

VEGF-A:n merkitys silmänsisäisen uudissuonittumisen synnyssä on kiistanalainen ja laajalti tutkittu. Nykyisin käytössä olevat lasiaiseen ruiskeina annettavat VEGF-A:n estäjät ovat olleet merkittävä edistysaskel. Ne auttavat kuitenkin vain noin 30–60 %:a potilaista, ja niitä joudutaan antamaan toistuvasti, mikä kuormittaa silmätautiyksiköitä Suomessa ja maailmalla. Pyrkimys nykyisiä VEGF-A:n estäjiä tehokkaampien hoitomuotojen kehittämiseen jatkuu (41).

## Ydinasiat

- ▶ Imusuonijärjestelmän häiriöiden nykyistä vaikuttavampien hoitomuotojen kehittämiseen tarvitaan translationaalista solu- ja kudostutkimusta.
- ▶ Proliferatiivinen diabeettinen verkkokalvosairaus on diabeteksen vaikein silmäkomplikaatio ja voi johtaa näön menetykseen.
- ▶ Silmän patologiseen angiogeneesiin voi liittyä myös imusuonten kaltaisten suonten kehitystä.
- ▶ Uudet havainnot imusuonijärjestelmästä saattavat auttaa kehitettäessä VEGF-A:n estoa tehokkaampia hoitomuotoja.
- ▶ Silmän patologinen angiogeneesi ja siihen liittyvä lymfangiogeneesi ovat nyky-lääketieteen keinoin osittain ratkaistavissa olevia ongelmia.

Viime aikoina mielenkiintoa on kohdistunut muun muassa tyrosiini-proteiinikinaasi-signaalointiin, integriineihin, Ang/TIE2-signaalointiin, yhdistettyyn VEGF-A:n ja Ang2:n estohoitoon, plasman kallikreiniinijärjestelmään, Sema3A-järjestelmään sekä matriksin metalloproteiinaasi 2:n (MMP2) ja 9:n (MMP9) estoon. Myös tulehdusta hillitseviä lääkeaineita (statiinit) ja kantasoluja tutkitaan aktiivisesti silmäsairauksien hoidossa.

VEGF-C:n esto saattaa lähitulevaisuudessa olla uusi diabeetikon vaikean silmäsairauden esto- tai hoitovaihtoehto (42). Yksilöllistetty lääketiede ja niin sanotut omiikkatutkimukset (esimerkiksi proteomiikka, transkriptomiikka ja lipidomiikka) voisivat myös edistää PDR:n patogeneesin ymmärtämistä ja nykyistä tehokkaampien hoitomuotojen kehitystä sekä käytönottoa.

Huomionarvoista on, että mahdollisiin tulevaisuuden hoitomuotoihin kuuluu geenihoito. Sillä voidaan parhaimmassa tapauksessa saada pitkäaikainen eli yli vuoden mittainen hoitovaikutus vain yhdellä silmän sisään annettavalla geenilääkeruiskeella. Geenihoitoja tutkitaan ak-

tiivisesti Suomessakin (43). Tällainen tutkimus voi olla erityisen kannattavaa, sillä uudissuonten kasvua estävät lääkkeet eivät ole vain luopuvia PDR:n hoitoon, vaan sellaisenaan myös mahdollisia uusia syöpälääkkeitä (**KUVA 5 B**).

## Lopuksi

Imusuonijärjestelmän tutkimukseen liittyy viime vuosien saavutuksista huolimatta vielä paljon kiistanalaisuuksia ja epäselvyyksiä. Monien kysymysten ratkaisuun tarvitaan luultavasti tarkkoja kuoleman jälkeen otettuja ihmiskudosnäytteitä hyödyntäviä tutkimuksia ja paremmin ihmisen anatomiaa vastaavien eläin- tai ex vivo -kudosmallien käyttöä. Imusuoniston merkityksen tutkiminen on aiheellista etenkin PDR:n kaltaisissa sairauksissa, joiden muodostumiseen liittyy verkkokalvon turvotusta ja kroonista tulehdusta.

Koska diabeetikoiden määrä on maailmanlaajuisesti suuri ja ennusteiden mukaan lisääntyy, on entistä tärkeämpää keskittää voimavaroja vakavan PDR:n perustutkimukseen. Näin sen kehitykseen liittyvät patologiset mekanismit vähitellen selviävät ja sen kehittymistä sekä siihen liittyvää näön menetystä voitaisiin estää tai ainakin hidastaa nykyistä paremmin. ■

**ERIKA GUCCIARDO, FT, tutkijatohtori**

Twitter: @ErikaGucciardo

**TIMO A. LEHTI, FT, tutkijatohtori**

**ANI KORHONEN, filosofian ylioppilas, tutkimusavustaja**  
Yksilöllisen lääkehoidon tutkimusohjelma, Helsingin yliopisto

**PETRI SALVÉN, LT, dosentti**

Patologian osasto, Helsingin yliopisto

**KAISA LEHTI, FT, dosentti**

Yksilöllisen lääkehoidon tutkimusohjelma, Helsingin yliopisto  
Karoliininen instituutti, Tukholma, Ruotsi  
Twitter: @LehtiLab

**MICHAEL JELTSCH, FT, apulaisprofessori**

Lääketutkimusohjelma ja Yksilöllisen lääkehoidon tutkimusohjelma, Helsingin yliopisto  
Wihurin tutkimuslaitos, Helsinki  
Twitter: @jeltsch

**SIRPA LOUKOVAARA, LT, silmäkirurgi, osastonylilääkäri, apulaisprofessori**

Yksilöllisen lääkehoidon tutkimusohjelma, Helsingin yliopisto  
Lasiais- ja verkkokalvokirurginen osasto, HUS Silmäklinikka, Helsinki

## KIRJALLISUUTTA

- Martinez-Corral I, Ulvmar, Stanczuk L, ym. Nonvenous origin of dermal lymphatic vasculature. *Circ Res* 2015;116:1649–54.
- Antila S, Karaman S, Nurmi H, ym. Development and plasticity of meningeal lymphatic vessels. *J Exp Med* 2017; 214:3645–67.
- Aspelund A, Antila S, Proulx ST, ym. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules. *J Exp Med* 2015;212:991–9.
- Louveau A, Plog BA, Antila S, ym. Understanding the functions and relationships of the glymphatic system and meningeal lymphatics. *J Clin Invest* 2017;127:3210–9.
- Grüntzig J, Hollmann F. Lymphatic vessels of the eye - old questions - new insights. *Ann Anat* 2019;221:1–16.
- Schapper M, Jeltsch M, Rohringer S, ym. Lymphatic vessels in regenerative medicine and tissue engineering. *Tissue Eng Part B Rev* 2016;22:395–407.
- Rauniar K, Jha SK, Jeltsch M. Biology of vascular endothelial growth factor C in the morphogenesis of lymphatic vessels. *Front Bioeng Biotechnol* 2018;6:7.
- Sabine A, Saygili Demir C, Petrova TV. Endothelial cell responses to biomechanical forces in lymphatic vessels. *Antioxid Redox Signal* 2016;25:451–65.
- Jeltsch M, Jha SK, Tvorogov D, ym. CCBE1 enhances lymphangiogenesis via A disintegrin and metalloprotease with thrombospondin motifs-3-mediated vascular endothelial growth factor-C activation. *Circulation* 2014;129:1962–71.
- Jha SK, Rauniar K, Chronowska E, ym. KLK3/PSA and cathepsin D activate VEGF-C and VEGF-D. *Elife* 2019;8:e44478.
- Hablitz LM, Vinitzky HS, Sun Q, ym. Increased glymphatic influx is correlated with high EEG delta power and low heart rate in mice under anesthesia. *Sci Adv* 2019;5:eaav5447.
- Aspelund A, Tammela T, Antila S, ym. The Schlemm's canal is a VEGF-C/VEGFR-3-responsive lymphatic-like vessel. *J Clin Invest* 2014;124:3975–86.
- Park DY, Lee J, Park I, ym. Lymphatic regulator PROX1 determines Schlemm's canal integrity and identity. *J Clin Invest* 2014;124:3960–74.
- Schroedl F, Kaser-Eichberger A, Schlereth SL, ym. Consensus statement on the immunohistochemical detection of ocular lymphatic vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55:6440–2.
- Gucciardo E, Loukovaara S, Salven P, ym. Lymphatic vascular structures: a new aspect in proliferative diabetic retinopathy. *Int J Mol Sci* 2018;19:4034.
- Wessel JM, Hofmann-Rummelt C, Kruse FE, ym. Invasion of lymphatic vessels into the eye after open globe injuries. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53:3717–25.
- Nakao S, Hafezi-Moghadam A, Ishibashi T. Lymphatics and lymphangiogenesis in the eye. *J Ophthalmol* 2012;2012:783163.
- Yang JF, Walia A, Huang Y, ym. Understanding lymphangiogenesis in knockout models, the cornea, and ocular diseases for the development of therapeutic interventions. *Surv Ophthalmol* 2016;61:272–96.
- Petrova TV, Koh GY. Organ-specific lymphatic vasculature: from development to pathophysiology. *J Exp Med* 2018; 215:35–49.
- Loukovaara S, Gucciardo E, Repo P, ym. Indications of lymphatic endothelial differentiation and endothelial progenitor cell activation in the pathology of proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 2015;93:512–23.
- Loukovaara S, Gucciardo E, Repo P, ym. A case of abnormal lymphatic-like differentiation and endothelial progenitor cell activation in neovascularization associated with hemi-retinal vein occlusion. *Case Rep Ophthalmol* 2015; 6:228–38.
- Gucciardo E, Loukovaara S, Korhonen A, ym. The microenvironment of proliferative diabetic retinopathy supports lymphatic neovascularization. *J Pathol* 2018;245: 172–85.
- Loukovaara S, Koivunen P, Inglés M, ym. Elevated protein carbonyl and HIF-1 $\alpha$  levels in eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 2014;92:323–7.
- Loukovaara S, Nurkkala H, Tamene F, ym. Quantitative proteomics analysis of vitreous humor from diabetic retinopathy patients. *J Proteome Res* 2015;14:5131–43.
- Jha SK, Rauniar K, Jeltsch M. Key molecules in lymphatic development, function, and identification. *Ann Anat Anat Anz* 2018;219:25–34.
- El-Asrar AMA, Nawaz MI, Kangave D, ym. High-mobility group box-1 and biomarkers of inflammation in the vitreous from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Mol Vis* 2011;17:1829–38.
- Loukovaara S, Piippo N, Kinnunen K, ym. NLRP3 inflammasome activation is associated with proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 2017;95:803–8.
- Loukovaara S, Robciuc A, Holopainen JM, ym. Ang-2 upregulation correlates with increased levels of MMP-9, VEGF, EPO and TGF $\beta$ 1 in diabetic eyes undergoing vitrectomy. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 2013;91:531–9.
- Cursiefen C, Chen L, Borges LP, ym. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *J Clin Invest* 2004;113:1040–50.
- Vaahromeri K, Karaman S, Mäkinen T, ym. Lymphangiogenesis guidance by paracrine and pericellular factors. *Genes Dev* 2017;31:1615–34.
- Ran S, Montgomery KE. Macrophage-mediated lymphangiogenesis: the emerging role of macrophages as lymphatic endothelial progenitors. *Cancers* 2012; 4:618–57.
- Ristimäki A, Narko K, Enholm B, ym. Proinflammatory cytokines regulate expression of the lymphatic endothelial mitogen vascular endothelial growth factor-C. *J Biol Chem* 1998;273:8413–8.
- Trost A, Runge C, Bruckner D, ym. Lymphatic markers in the human optic nerve. *Exp Eye Res* 2018;173:113–20.
- Fang S, Wei J, Pentimikko N, ym. Generation of functional blood vessels from a single c-kit+ adult vascular endothelial stem cell. *PLoS Biol* 2012; 10:e1001407.
- Zhong W, Gao X, Wang S, ym. Prox1-GFP/Flt1-DsRed transgenic mice: an animal model for simultaneous live imaging of angiogenesis and lymphangiogenesis. *Angiogenesis* 2017;20:581–98.
- Robinson R, Barathi VA, Chaurasia SS, ym. Update on animal models of diabetic retinopathy: from molecular approaches to mice and higher mammals. *Dis Model Mech* 2012;5:444–56.
- Kokki E, Karttunen T, Olsson V, ym. Human vascular endothelial growth factor A165 expression induces the mouse model of neovascular age-related macular degeneration. *Genes* 2018;9:438.
- Gucciardo E, Loukovaara S, Korhonen A, ym. An ex vivo tissue culture model for fibrovascular complications in proliferative diabetic retinopathy. *J Vis Exp, julkaistu verkossa 25.1.2019. DOI: 10.3791/59090.*
- Akiyama H, Li D, Shimoda Y, ym. Observation of neovascularization of the disc associated with proliferative diabetic retinopathy using OCT angiography. *Jpn J Ophthalmol* 2018;62:286–91.
- Absinta M, Ha SK, Nair G, ym. Human and nonhuman primate meninges harbor lymphatic vessels that can be visualized noninvasively by MRI. *Elife* 2017;6:e29738.
- Bromberg-White JL, Glazer L, Downer R, ym. Identification of VEGF-independent cytokines in proliferative diabetic retinopathy vitreous. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:6472–80.
- Güç E, Briquez PS, Foretay D, ym. Local induction of lymphangiogenesis with engineered fibrin-binding VEGF-C promotes wound healing by increasing immune cell trafficking and matrix remodeling. *Biomaterials* 2017;131:160–75.
- Kalesnykas G, Kokki E, Alasaarela L, ym. Comparative study of adeno-associated virus, adenovirus, baculovirus and lentivirus vectors for gene therapy of the eyes. *Curr Gene Ther* 2017;17:235–47.

## SUMMARY

### Lymphatic vessels and the eye

The lymphatic system, fundamental for body fluid homeostasis and immune system functions, also participates in pathological processes including cancer, cardiovascular and neurodegenerative diseases. Many aspects of the lymphatic system are unclear, but great advancements have been made – e.g. the discovery of meningeal lymphatics and the lymphatic-like nature of Schlemm's canal. Lymphatic-like structures were also recently discovered in proliferative diabetic retinopathy, a severe diabetic eye complication, where the treatment of pathological neovessel growth is not always effective. Novel findings in the field can help to develop new treatments for lymphatic disorders and for other diseases where lymphatic neovascular growth is involved.

## SIDONNAISUUDET

**Erika Gucciardo:** Ei sidonnaisuuksia

**Timo A. Lehti:** Ei sidonnaisuuksia

**Ani Korhonen:** Ei sidonnaisuuksia

**Petri Salvén:** Ei sidonnaisuuksia

**Kaisa Lehti:** Ei sidonnaisuuksia

**Michael Jeltsch:** Apuraha (Novo Nordisk Fonden)

**Sirpa Loukovaara:** Apuraha (Silmäsäätiö, Valtion tutkimusrahoitus (TYH-hanke), Diabetestutkimussäätiö, Mary ja Georg C Ehrnroothin säätiö, Silmä- ja kudospankkisäätiö, Suomen Lääketieteen Säätiö), luentopalkkio/asiantuntijapalkkio (Alcon Finland, Thea Finland), korvaukset koulutus- ja kongressikuluista (Alcon Finland)

## VASTUUTOIMITTAJA

Seppo Meri