

(128)

Rola mechanizmu oksydacyjnego w patogenezie zwyrodnienia siatkówki związanego z wiekiem (AMD)

The role of the oxidative mechanisms in the pathogenesis of age related macular degeneration

Mariusz Nowak, Bogdan Marek, Beata Kos-Kudła¹, Dariusz Kajdaniuk, Joanna Głogowska-Szeląg

Z Zakładu Patofizjologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
Kierownik: dr hab. n. med. Bogdan Marek

¹Z Kliniki Endokrynologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
Kierownik: dr hab. n. med. Beata Kos-Kudła, prof. ŚAM

Summary: Oxidative stress, are believed to be an important factor in the pathogenesis of age related diseases e.g. age related macular degeneration (AMD) and age related cataract. There is strong evidence suggesting that antioxidants can protect against development of these diseases, however other experimental and clinical data have often been inconsistent. In this paper authors present the review of the literature concerning the connections between oxidative mechanisms and AMD and protective role of the antioxidative vitamin and other antioxidative factors supplementation in this disorder. This publication tries to estimate the anti-pericyte autoantibodies role in progression of diabetic retinopathy.

Słowa kluczowe: zwyrodnienie siatkówki związane z wiekiem, antyutleniacze, witaminy antyutleniające.

Key words: age related macular degeneration, antioxidants, antioxidative vitamins.

W ostatnich latach wiele uwagi poświęcono zagadnieniu powiązań zaburzeń oksydacyjnych z rozwojem niektórych schorzeń związanych z wiekiem. Część autorów sugeruje, że stres oksydacyjny może stanowić istotny czynnik patogenetyczny chorób narządu wzroku związanych z wiekiem, takich jak zwyrodnienie siatkówki związane z wiekiem (AMD) oraz zaćma. Coraz częściej podkreśla się istotną rolę suplementacji antyoksydantów w profilaktyce oraz leczeniu zarówno AMD, jak i zaćmy.

Istnieje kilka przyczyn, dla których siatkówka jest idealnym miejscem przebiegu reakcji, skutkujących powstawaniem wolnych rodników tlenowych. Wśród nich należy wymienić następujące fakty:

- ❖ zużycie tlenu w siatkówce jest znacznie większe niż w innych tkankach organizmu;
- ❖ siatkówka jest miejscem, w którym ogniskuje się duża ilość energii świetlnej;
- ❖ zewnętrzny segment fotoreceptorów jest szczególnie bogaty w wielonienasycone kwasy tłuszczowe;
- ❖ procesy fagocytozy przebiegające w nabłonku barwnikowym siatkówki (REP) powodują generację dużej ilości wolnych rodników tlenowych.

Czynniki ryzyka rozwoju AMD

Obecnie wymienianych jest wiele czynników ryzyka rozwoju AMD.

Dużej części z nich nie jesteśmy w stanie uniknąć, niektóre jednak można dość skutecznie monitorować. Do rozpoznanych czynników ryzyka należą: wiek, czynniki genetyczne (12), palenie tytoniu (13), choroby układu sercowo-naczyniowego i następne zaburzenia hemodynamiczne (11), zaburzenia gospodarki lipidowej (18), nadmierna ekspozycja na światło słoneczne (6), obniżona gęstość barwników siatkówki (luteiny i zeaksantyny) (2,4), zaburzenie równowagi procesów oksydacyjno-redukcyjnych organizmu (16).

W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie oznaczaniem stężeń kwasu foliowego oraz witaminy B₆ we krwi, które, jak wykazano, odgrywają rolę nie tylko w rozwoju zmian miażdżycowych w naczyniach, ale również w rozwoju niektórych chorób narządu wzroku (17). Witaminy te są niezbędne do usuwania z organizmu nadmiaru homocysteiny — aminokwasu o działaniu peroksydacyjnym.

Mechanizmy wolnorodniowe

Wolne rodniki (WR) to atomy lub grupy atomów, charakteryzujące się obecnością na zewnętrznej powłoce elektronowej elektronu bądź

elektronów o niesparowanym spinie. Wolne rodniki dążą do sparowania tych elektronów i uzyskania stabilności energetycznej, co determinuje ich ogromną reaktywność chemiczną oraz nietrwałość.

Proces ten jest następstwem odebrania elektronów biomolekułom, takim jak białka, kwasy nukleinowe czy wielonienasycone kwasy tłuszczowe.

Tlen dostarczany do tkanek i komórek w 95-99% wykorzystywany jest w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym w procesach utleniania do wytwarzania energii z powstawaniem wody. Pozostała ilość tlenu, unikając drogi metabolicznej, katalizowanej przez oksydazy cytochromowe, podlega innym przemianom. Tlen cząsteczkowy otrzymuje i wbudowuje do swojego układu dodatkowy elektron. W wyniku tej reakcji powstaje rodnik nadtlenkowy (O_2^-) o charakterze anionu, w wielu pracach określany również terminem „wolny rodnik tlenowy”. Jest on najmniej aktywnym rodnikiem tlenowym, jednak ma zdolność łatwej migracji w obrębie komórki, co jest powodem licznych uszkodzeń jej struktur. Reaguje z białkami, kwasami nukleinowymi, a przede wszystkim z lipidami błon komórkowych. „Atakuje” on te substraty, dążąc do uzyskania jeszcze jednego elektronu, tak aby powstał układ orbitalny, energetycznie zrównoważony. W wyniku tych reakcji powstaje wiele uszkadzających komórki związków o pośrednim charakterze, takich jak rodnik hydroksylowy (OH^-) czy nadtlenek wodoru (H_2O_2).

Najbardziej reaktywnym i toksycznym rodnikiem pochodzenia tlenowego jest rodnik hydroksylowy (OH^-). Jego źródłem w komórce jest przede wszystkim reakcja Habera-Weissa: $O_2^- + H_2O_2 \rightarrow OH^- + OH + O_2$.

Wolne rodniki utleniają szczególnie nienasycone kwasy tłuszczowe (np. w cząstkach lipoprotein, w strukturach błon komórkowych) oraz białka. Peroksydacja lipidów jest procesem lawinowym, zapewniającym ciągłą dostawę wolnych rodników.

W przypadku białek WR stymulują utlenianie wolnych grup tiolowych i ich dimeryzację, wzmagają agregację i denaturację białka.

Krótkotrwałe narażenie tkanek na toksyczne działanie WR prowadzi do wczesnych, odwracalnych morfologicznych zmian w komórkach (niewielki obrzęk oraz przerost błon siateczki śródplazmatycznej, agregacja chromatyny wokół jąder). Dalsze działanie WR powoduje obkurczenie mitochondriów i ich uszkodzenie, zniszczenie błon innych organelli komórkowych oraz upłynnienie jądra. Konsekwencją tych zmian jest tzw. fizjologiczna śmierć komórki, czyli apoptoza.

Cai i wsp. (5) w badaniach *in vitro* wykazali, że komórki RPE poddane stresowi oksydacyjnemu podlegają procesowi przyspieszonej apoptozy. Jest to prawdopodobnie zasadnicza przyczyna utraty komórek RPE — najwcześniejszego stadium rozwoju AMD.

Nadprodukcja wolnych rodników — stres oksydacyjny

Wytwarzanie wolnych rodników zwiększa się w przypadku niedoboru antyoksydantów, takich jak witaminy A, E, C, oraz mikroelementów wchodzących w skład enzymów antyoksydacyjnych (miedź, cynk, mangan, selen), w przypadku diety zbyt bogatej w wielonienasycone kwasy tłuszczowe i ubogiej w jednonienasycone kwasy tłuszczowe, w przypadku hiperglikemii, w różnych ogólnych stanach stresowych, u palaczy tytoniu.

Ostry stres oksydacyjny może powodować śmierć komórek, umiarkowany zaś prowadzi powoli do upośledzenia funkcji komórek, tak jak obserwuje się to w procesie starzenia się organizmu.

System antyoksydacyjny ustroju

Istnieją dwie równoległe pracujące składowe układowe antyoksydacyjne: enzymatyczna i nieenzymatyczna.

Do składowej enzymatycznej zaliczamy dysmutazę nadtlenkową (SOD), katalazę (CT), peroksydazę glutationową (GPX) oraz reduktazę glutationową (GR). Występowanie tych enzymów zostało potwierdzone zarówno w fotoreceptorach, jak i komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE) (7).

Dysmutaza nadtlenkowa katalizuje reakcję połączenia anionów nadtlenkowych z wodorem z wytworzeniem nadtlenku wodoru oraz tlenu. Jest ona metaloproteiną zawierającą mangan (Mn-SOD) lub miedź i cynk (CuZn-SOD). W badaniach Pathologies Oculaires Lees al'Age (POLA) nie wykazano związku pomiędzy aktywnością SOD a rozwojem AMD (8). De La Paz i wsp. (7), oceniając aktywność SOD w siatkówkach oczu uzyskanych od dawców narządowych, nie stwierdzili obniżenia jej aktywności wraz z wiekiem badanych.

Inni badacze (16) wykazali natomiast znamienny wzrost stężenia SOD w grupie chorych z AMD.

Peroksydaza i reduktaza glutationowa. Glutation jest rozpuszczalnym w wodzie tripeptydem, obecnym w zewnętrznych segmentach fotoreceptorów. Badania POLA wykazały odwrotną współzależność pomiędzy rozwojem AMD a stężeniem glutationu w erytrocytach (8). Peroksydaza glutationu (Glu-Px) wykorzystuje glutation jako dawcę elektronów w reakcji zredukowania nadtlenku wodoru. Peroksydaza glutationowa działa w siatkówce w obecności kofaktora, którym jest selen. Wykazano, że Glu-Px jest jednym z najsilniejszych biochemicznych wskaźników rozwoju AMD (8). Reduktaza glutationu nie działa bezpośrednio jako antyoksydant, lecz jest niezbędna do odnowy glutationu. Wykazano powiązanie pomiędzy występowaniem AMD a obniżonym stężeniem reduktazy glutationu w surowicy krwi.

Katalaza jest enzymem działającym w obecności jonów żelazawych, katalizującym reakcje rozkładu nadtlenku wodoru. De La Paz i wsp. (7) wykazali jej aktywność w komórkach siatkówki oka. W badaniach własnych również wykazaliśmy niewielki wzrost aktywności katalazy w surowicy krwi chorych z rozpoznaniem AMD (17).

Skutkiem wzmoczonej ekspozycji na WR tlenowe jest wzmoczona aktywność enzymów rozkładających WR.

Druga składowa układu antyoksydacyjnego to składowa nieenzymatyczna, opierająca się na działaniu obecnych w organizmie substancji redukujących.

Jednym z zasadniczych elementów tego układu jest omówiony wcześniej glutation.

Witamina E. Jest głównym antyoksydantem chroniącym błony komórkowe przed niszczącym wpływem aktywnych form tlenu. Występuje w czterech postaciach: jako α -tokoferol, β -tokoferol, γ -tokoferol oraz δ -tokoferol. Z postaci tych α -tokoferol jest najsilniejszą oraz dominującą formą tokoferolu zarówno w surowicy krwi, jak i w siatkówce.

W badaniach Beaver Dam Eye Study (BDES) wykazano znamienny wzrost częstości występowania dużych druz rejonu okołoplamkowego siatkówki u osób spożywających niewystarczające ilości witaminy E w stosunku do grupy poddanej pełnej suplementacji witaminowej (20).

W badaniach Eye Disease Case Control Study (EDCC) wykazano z kolei odwrotną współzależność (aczkolwiek niezamienną) pomiędzy spożywaniem witaminy E a rozwojem postaci neowaskularnej AMD (19).

Delcour i wsp. (8) oraz Nowak i wsp. (16) stwierdzili znamienne odwrotną korelację pomiędzy stężeniem witaminy E w surowicy krwi a występowaniem zarówno wczesnych, jak i późnych form AMD.

Witamina A. Jest niezbędna do prawidłowego procesu widzenia. Witamina A hamuje reakcje peroksydacji błon komórkowych, co jest bardzo istotne dla prawidłowego funkcjonowania komórek zmysłowych siatkówki.

W badaniach National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) wykazano 40% obniżenie ryzyka rozwoju AMD u osób, które spożywały pokarmy bogate w witaminę A. Nie jest jednak wykluczone, że w badaniach tych obserwowano również działanie ochronne karotenoidów, które również obecne są w dużej ilości w pokarmach bogatych w witaminę A (9).

Karotenoidy, podobnie jak tokoferole, reagują z organicznymi WR, powstającymi w procesie peroksydacji lipidów. Karotenoidy są to naturalnie występujące barwniki odpowiedzialne głównie za wychwyt energii świetlnej. Niektóre z nich mogą być przekształcone w witaminę A i dlatego nazywa się je prowitaminą A. Właściwości antyoksydacyjne karotenoidów w chwili obecnej nie są kwestionowane.

W siatkówce stwierdzono występowanie jedynie dwóch karotenoidów, tj. luteiny (L) oraz zeaksantyny (Z), powszechnie nazywanych barwnikami plamkowymi (MP). Największe ich stężenie występuje w centrum plamki. Produkty utlenienia luteiny oraz zeaksantyny stwierdzono w siatkówce, co dodatkowo wskazuje na ich rolę antyoksydacyjną.

Bone i wsp. (4), wykorzystując metodę chromatografii cieczowej (HPLC), stwierdzili niższe stężenie L i Z w rejonie okołoplamkowym w siatkówkach uzyskanych z oczu 56 dawców z rozpoznaniem wcześniej AMD w stosunku do stężenia L i Z w siatkówkach grupy kontrolnej, tj. dawców bez rozpoznanego wcześniej AMD. Beaty i wsp. (2), stosując metodę fotometrii heterochromatycznej, uzyskali podobne rezultaty. Stwierdzili mianowicie znamienne obniżenie gęstości optycznej MP wraz z wiekiem oraz znamienne niższą liczbę MP w oczach z dużym ryzykiem rozwoju AMD.

Stężenie barwników wzrokowych uzależnione jest od podaży w diecie i przez odpowiednią suplementację może być modyfikowane.

Barwniki plamkowe chronią siatkówkę przed uszkodzeniem świetlnym, działając jak filtr dla światła niebieskiego, będącego przyczyną fotooksydacyjnych uszkodzeń siatkówki. Dodatkowo spełniają one ważną funkcję antyoksydacyjną, wykazując zdolność reakcji z wolnymi rodnikami tlenowymi oraz ograniczając peroksydację fosfolipidów błon komórkowych.

Witamina C. Właściwości antyoksydacyjne kwasu askorbinowego (witaminy C) wyrażają się w reaktywności wobec O_2^- , H_2O_2 , OH^- , $HOCl^-$. Kwas askorbinowy jest najsilniejszym z antyoksydantów działających w środowisku wodnym. Bierze udział w detoksykacji substancji zanieczyszczających powietrze, takich jak np. ozon, NO_2 , wolne rodniki dymu tytoniowego, hamuje również peroksydację lipidów poprzez regenerowanie tokoferolu oraz peroksydację hemoglobiny.

Badania EDCC wykazały dodatnią korelację pomiędzy niskim stężeniem witaminy C w surowicy krwi a występowaniem AMD, nie wykazano natomiast ochronnej roli wysokiego stężenia witaminy C w tej chorobie (19). Podobne rezultaty przedstawili również inni autorzy (16).

Jony metali grup przejściowych. Podstawową rolę w obronie antyoksydacyjnej odgrywają jony metali grup przejściowych (żelazo, miedź, cynk, selen, mangan). Miedź, cynk oraz mangan wcho-

dzą w skład dysmutazy ponadtlenkowej, jon żelazawy – katalazy, a selen – peroksydazy glutationowej.

Wyniki badań oceniających rolę suplementacji jonów metali grup przejściowych w leczeniu AMD nie są jednoznaczne, a interpretacja uzyskanych wyników – często trudna (35).

Część autorów sugeruje, że podwyższone stężenie karotenoidów w surowicy krwi może obniżyć ryzyko rozwoju zaćmy (14), jednak w wielu pracach nie wykazano takiego powiązania (15). W soczewce stwierdzono też obecność małego stężenia luteiny (L) oraz zeaksantyny (Z) (1). Hammond i wsp. (10) wykazali wysoką korelację pomiędzy stężeniem tych barwników w plamce żółtej a ich stężeniem w soczewce, sugerując, że stężenie L i Z w siatkówce może być wykorzystane do oceny ich stężenia w soczewce.

Dotychczasowe wyniki badań, w których stosowano suplementację składników antyoksydacyjnych, nie są jednoznaczne. Generalnie jednak wskazuje się na ich ochronne działanie hamujące rozwój i progresję AMD oraz zaćmy, jak również innych chorób związanych z wiekiem.

Podsumowując przedstawione wyniki badań, można sądzić, że:

1. właściwa dieta może zapobiegać rozwojowi zmian miażdżycowych, które uważane są za jeden z czynników włączonych w patogenezę AMD;
2. dieta bogata w składniki o właściwościach antyoksydacyjnych może hamować uszkodzenie komórek spowodowane stresem oksydacyjnym;
3. mechanizm adaptacyjny chroniący przed stresem oksydacyjnym to przede wszystkim wzrost aktywności składowej enzymatycznej układu antyoksydacyjnego organizmu;
4. uzupełnienie niedoborów składowych nieenzymatycznych układu antyoksydacyjnego może w znamienny sposób usprawnić obronę antyoksydacyjną organizmu.

PIŚMIENNICTWO:

1. Bates C. J., Chen S. J., MacDonald A., Holden R.: *Quantitation of vitamin E and a carotenoid pigment in cataractous human lenses, and the effect of a dietary supplement*. Int. J. Vitam. Nutr. Res., 1996, 66, 316-321.
2. Beatty S., Murray I. J., Henson D. B., Carden D., Kob H. H., Boulton M. E.: *Macular Pigment and Risk for Age-Related Macular Degeneration in Subjects from a Northern European Population*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2001, 42, 439-446.
3. Blumenkranz M. S., Russell S. R., Robey M. G., Kott-Blumenkranz R., Penneys N.: *Risk factors in age-related maculopathy complicated by choroidal neovascularisation*. Ophthalmology, 1986, 93, 552-557.
4. Bone R. A., Landrum J. T., Mayne S. T., Gomez C. M., Tibor S. E., Twaroska E. E.: *Macular pigment in donor eyes with and without AMD: a case-control study*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2001, 42, 235-240.
5. Cai J., Nelson K. C., Wu M., Sternberg P. Jr., Jones D. P.: *Oxidative damage and protection of the RPE*. Prog. Reti. Eye Res., 2000, 19 (2), 205-221.
6. Cruickshanks K. J., Klein R., Klein B. E.: *Sunlight and age-related macular degeneration. The Beaver Dam Eye Study*. Arch. Ophthalmol., 1993, 111, 514-518.
7. De La Paz M. A., Zhang J., Fridovich I.: *Antioxidant enzymes of the human retina: effect of age on enzyme activity of macular and periphery*. Curr Eye Res., 1996, 15, 273-278.

8. Delcour C., Cristol J. P., Leger C. L., Descomps B., Papoz L.: *Association of antioxidant enzymes with cataract and age-related macular degeneration. The POLA Study. Pathologies Oculaires Liees al'Age*. Ophthalmology, 1999, 106, 215-222.
9. Goldberg J., Flowerdew G., Smith E., Brody J. A., Tso M. O.: *Factors associated with age-related macular degeneration. An analysis of data from the first National Health and Nutrition Examination Survey*. Am. J. Epidemiol., 1988, 128, 700-710.
10. Hammond B. R., Wooten B. R., Snodderly D. M.: *Density of the humans crystalline lens is related to the macular pigment carotenoids, lutein and zeaxanthin*. Optom. Vis. Sci., 1997, 74, 499-504.
11. Hyman L., Schachat A. P., He Z., Leske C.: *Hypertension, cardiovascular disease, and age-related macular degeneration*. Arch. Ophthalmol., 2000, 118, 351-358.
12. Kimura K., Isashiki Y., Sonoda S., Kakiuchi-Matsumoto T., Ohba N.: *Genetic association of manganese superoxide dismutase with exudative age-related macular degeneration*. Am. J. Ophthalmol., 2000, 130, 769-773.
13. Klein R., Klein B. E., Linton K. L., DeMets D. L.: *The Beaver Dam Eye Study: the relation of age related maculopathy to smoking*. Am. J. Epidemiol., 1993, 137, 190-200.
14. Mares-Perlman J. A., Brady W. E., Klein B. E., Klein R., Hans G. J., Palta M., Ritter L. L., Shoff SM.: *Diet and nuclear lens opacities*. Am. J. Epidemiol., 1995, 141, 322-334.
15. Mares-Perlman J. A., Brady W. E., Klein B. E. K., Klein R., Palta M., Bowen P., Stacewicz-Sapuntzakis M.: *Serum carotenoids and tocopherols and severity of nuclear and cortical opacities*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1995, 36, 276-288.
16. Nowak M., Świętochowska E., Wielkoszyński T., Marek B., Karpe J., Górski J., Głogowska-Szeląg J., Kos-Kudła B., Ostrowska Z.: *Changes of the blood antioxidants and several lipid peroxidation products in women wit age-related macular degeneration*. Eur. J. Ophthalmol., 2003, 13 (3), 281-286.
17. Nowak M., Świętochowska E., Szapska B., Marek B., Kozioł H., Klimek J., Kajdaniuk D., Ostrowska Z., Siemińska L., Głogowska-Szeląg J.: *Chosen parameters of the lipid and homocysteine metabolism in exudative age-related macular degeneration*. Eur. J. Clin. Invest., 2003, 33 (Suppl. 1), 12.
18. Nowak M., Świętochowska E., Marek B., Szapska B., Wielkoszyński T., Kos-Kudła B., Karpe J., Kajdaniuk D., Siemińska L., Głogowska-Szeląg J., Nowak K.: *Changes in the lipid metabolism in women with age-related macular degeneration*. Clin. Exp. Med., 2005, 5, w druku.
19. Seddon J. M., Ajani U. A., Sperduto R. D., Hitler R., Blair N., Burton T. C., Farber M. D., Gragondas E. S., Haller J., Miller D. T.: *Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration*. Eye Disease Case Control Study, JAMA, 1994, 272, 1413-1420.
20. Vanden Langenberg G. M., Mares-Perlman J. A., Klein R., Klein B. E., Brady W. E., Palta M.: *Association between antioxidant and zinc intake and the 5-year incidence of early age-related maculopathy in the Beaver Dam Eye Study*. Am. J. Epidemiol. 1998, 148, 204-214.

Praca wpłynęła do Redakcji 15.11.2003 r. (346).

Zakwalifikowano do druku 4.05.2005 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

dr n. med. Mariusz Nowak
Zakład Patofizjologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii
Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
pl. Traugutta 2
41-800 Zabrze