

(61)

Stres oksydacyjny jako czynnik patogenezy dystrofii Fuchsa

Oxidative stress in the pathogenesis of Fuchs endothelial corneal dystrophy

Katarzyna A. Wójcik¹, Janusz Błasiak¹, Anna Kamińska^{2,3}, Anna K. Kurowska³, Jerzy Szaflik^{2,3}, Jacek P. Szaflik^{2,3}

¹ Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Katedry Genetyki Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego
Kierownik: dr hab. Katarzyna Woźniak, prof. nadzw. UŁ

² Katedra i Klinika Okulistyki II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Kierownik: prof. dr. hab. n. med. Jerzy Szaflik

³ Samodzielny Publiczny Kliniczny Szpital Okulistyczny w Warszawie
Kierownik: prof. dr. hab. n. med. Jerzy Szaflik

Streszczenie:

Dystrofia śródłonkowa Fuchsa jest chorobą, która ujawnia się po czterdziestym roku życia. Zaburzenie to charakteryzuje się występowaniem uwypukleń w błonie Descemeta, określanych jako *cornea guttata*, oraz zmianami w gęstości komórek śródłonka rogówki i w ich morfologii. Patogeneza dystrofii śródłonkowej Fuchsa nie została do końca wyjaśniona. Autosomalny dominujący sposób dziedziczenia, obserwowany u części pacjentów, sugeruje genetyczne podłoże tej choroby. Również czynniki środowiskowe – jak się wydaje – odgrywają ważną rolę w patogenezie dystrofii śródłonkowej Fuchsa. Różnie liczba wyników, które wskazują, że stres oksydacyjny ma wpływ na rozwój tego schorzenia. W rogówce z klinicznie rozpoznaną dystrofią śródłonkową Fuchsa stwierdzono podwyższony poziom produktów działania reaktywnych form tlenu, a jednocześnie zmniejszenie ekspresji niektórych enzymów antyoksydacyjnych, w tym reduktazy tioredoksyny, metalotioneiny 3. i dysmutazy nadadtlenkowej 2. Zaburzenie równowagi między produkcją reaktywnych form tlenu a ich neutralizacją może mieć szkodliwy wpływ na składniki komórkowe i w konsekwencji prowadzi do uszkodzeń molekularnych i komórkowych. Wydaje się, że zmiany obserwowane w przebiegu dystrofii śródłonkowej Fuchsa głównie zajmują mitochondria. Rogówki z klinicznie rozpoznaną dystrofią śródłonkową Fuchsa wykazują znacząco podwyższony poziom uszkodzeń mitochondrialnego DNA (mtDNA). Zmiany w strukturach mtDNA mogą powodować utratę integralności wewnętrznej błony mitochondrialnej i aktywowanie wewnętrznych szlaków apoptotycznych. Dlatego istnieją przypuszczenia, że stres oksydacyjny może być przyczyną zmian morfologicznych lub apoptozy w komórkach śródłonka rogówki, które są charakterystyczne dla dystrofii śródłonkowej Fuchsa.

Słowa kluczowe:

dystrofia śródłonkowa Fuchsa, stres oksydacyjny, antyoksydanty, wolne rodniki, mitochondrialny DNA.

Summary:

Fuchs endothelial corneal dystrophy is a disease which occurs after the fourth decade of life. This disorder is characterized by the formation of excrescences growing from the Descemet membrane, called *cornea guttata*, and changes in the corneal endothelial cell density and morphology. The pathogenesis of Fuchs endothelial corneal dystrophy is not completely known. Autosomal dominant mode of inheritance observed in some cases of Fuchs endothelial corneal dystrophy suggests possible genetic etiology of the disease. Environmental factors also seem to be associated with Fuchs endothelial corneal dystrophy. A growing number of reports suggest an important role of oxidative stress in this disorder. An increased level of toxic products of reactive oxygen species activity and the decreased expression of antioxidant enzymes, including thioredoxin reductase, metallothionein 3 and superoxide dismutase 2, were detected in corneas of patients with Fuchs endothelial corneal dystrophy. The imbalance between the production and neutralization of reactive oxygen species may result in oxidative stress exerting a harmful effect on cellular components, leading to molecular and cellular damage. Mitochondria may be a key target of alterations seen in Fuchs endothelial corneal dystrophy. An increased level of oxidative mitochondrial DNA (mtDNA) damage was detected in corneas of patients with Fuchs endothelial corneal dystrophy. Disturbance in mtDNA may cause loss of integrity of inner mitochondrial membrane potential and activate the inner apoptotic pathway. Consequently, oxidative stress may contribute to the changes in endothelial morphology and apoptosis observed in Fuchs endothelial corneal dystrophy.

Key words:

Fuchs endothelial corneal dystrophy, oxidative stress, antioxidants, free radicals, mitochondrial DNA.

1. Wstęp

Dystrofia śródłonkowa Fuchsa (Fuchs endothelial corneal dystrophy – FECD) jest niezapalnym, postępującym zaburzeniem tylnej warstwy rogówki, występującym zwykle w oboju oczach. Schorzenie to ujawnia się zazwyczaj po 40. roku życia i częściej dotyka kobiet niż mężczyzn (1). Jest najczęściej wy-

stępująca dystrofią rogówki i częstą przyczyną utraty wzroku w populacji krajów rozwiniętych. Wskaźnik zachorowań na FECD jest odmienny w różnych regionach świata.

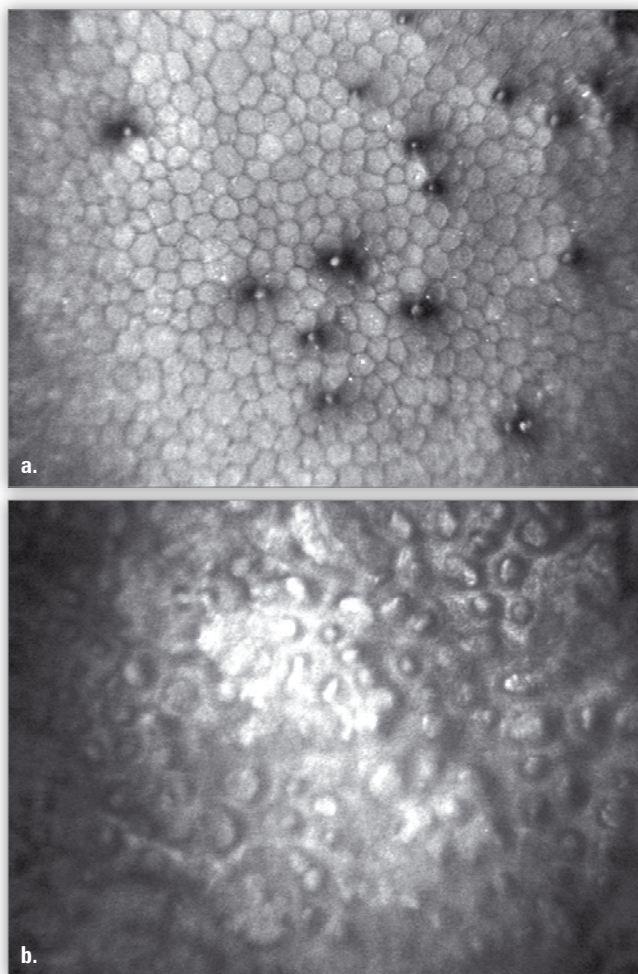
Choroba charakteryzuje się powolnym i progresywnym przebiegiem. W początkowym stadium FECD pojawiają się okrągłe lub kropelkowate, skierowane do komory przedniej oka uwypukle-

nia błony Descemeta, określane jako *cornea guttata*, najbardziej liczne w centralnej części rogówki. Następnie *guttata* łączą się i rozprzestrzeniają w kierunku obwodu rogówki (ryc. 1.). Klinicznie na tylnej powierzchni rogówki, w świetle odbitym, obserwuje się małe, ciemne plamy spowodowane zniszczeniem regularnego, mozaikowego ułożenia komórek śródbłonka oraz obecność ziaren melaniny, co nadaje jej charakterystyczny wygląd „kutego metalu”. Jednocześnie następuje stała redukcja liczby komórek śródbłonka. W następstwie tego dochodzi do zaburzenia jego funkcji jako pompy regulującej przepływ płynów między istotą właściwą a cieczą wodnistą oka, jest to niezbędnym warunkiem utrzymującym rogówkę w stanie lekkiego odwodnienia dla zachowania przejrzystości tkanki. W konsekwencji rozwija się obrzęk istoty właściwej, subiektywnie objawiający się stopniowym zamgleniem widzenia, głównie w godzinach porannych. Postępujący obrzęk miąższu prowadzi do rozwoju pęcherzy w nabłonku, które pękając, mogą powodować ból. W zaawansowanej fazie choroby, na skutek przewlekłych zmian w strukturze istoty właściwej, rogówka staje się nieprzezroczysta. Wyjątkowo obserwuje się wnikanie naczyń rąbkowych w istotę właściwą. Na tym etapie ból zwykle ustępuje, jednak dochodzi do znacznego pogorszenia ostrości widzenia, a nawet ślepoty (1–3). Leczeniem jest przeszczep rogówki – warstwowy tylny lub pełnej grubości w przypadku zaawansowanych zmian w istocie właściwej.

Do tej pory nie powiodły się próby wyjaśnienia patogenezy FECD. Wyniki licznych badań wskazują na związek między różnorodnością genetyczną a zwiększonym ryzykiem zachorowania na FECD. Zaobserwowano m.in. korelację między mutacjami w genie *COL8A2* a występowaniem rodzinnych dystrofii Fuchsa o wczesnym początku. Gen *COL8A2* koduje łańcuch alfa 2 kolagenu 8., który jest ważnym elementem błony Descemeta, dlatego sugeruje się, że mutacje w tym genie mogą prowadzić do znaczących zmian w tej warstwie rogówki oraz zwiększać jej wrażliwość na czynniki zewnętrzne. Wydaje się również, że mutacje w genie *SLC4A11* mogą mieć wpływ na rozwój FECD. *SLC4A11* koduje białko, które odgrywa ważną rolę w transporcie jonów sodu, jednak rola tego genu w patogenezie FECD nie została do końca wyjaśniona. Wykryto również związek między mutacjami *TCF4* i *TCF8* a występowaniem FECD. Geny te kodują czynniki transkrypcyjne, które uczestniczą w regulacji wzrostu i różnicowania różnych typów komórek. Jednak brakuje jednoznacznego związku między produktami tych genów a stresem oksydacyjnym. Dotychczas przeprowadzone badania pozwoliły również zidentyfikować kilka *loci*, które prawdopodobnie odpowiedzialne są za genetyczne podłoże tej choroby (2, 3, 4).

Ekspozycja na promieniowanie słoneczne, w tym promieniowanie UV, i wysokie stężenie tlenu atmosferycznego powodują, że rogówka narażona jest na podwyższone stężenie reaktywnych form tlenu i azotu (ROS/RNS). Dodatkowo wzrost stresu oksydacyjnego może następować w wyniku urazów, infekcji oraz palenia tytoniu (5). Mimo że ROS i RNS są ważnymi cząstkami sygnałowymi wielu procesów komórkowych, ich nagromadzenie może prowadzić do zaburzenia funkcjonowania komórek i tkanek. Powstające ROS i RNS charakteryzują się wysoką aktywnością, mogą oddziaływać ze związkami i strukturami komórkowymi, zaburzając homeostazę komórkową.

Badania rogówki osób, u których klinicznie rozpoznano FECD, pozwoliły stwierdzić, że wzrósł poziom produktów dia-



Ryc. 1a., b. Zdjęcia rogówki w stadiach dystrofii Fuchsa – początkowym i zaawansowanym, wykonane za pomocą mikroskopii konfokalnej.

Fig. 1a., b. Confocal microscopy corneal images in the early and advanced stages of Fuchs' endothelial dystrophy.

łania ROS i RNS w tym narządzie w porównaniu z tymi samymi parametrami u osób z grupy kontrolnej dobranej wiekowo (6, 7). Dodatkowo stwierdzono zwiększone stężenie syntazy tlenku azotu (NOS) w komórkach rogówki z klinicznie rozpoznaną FECD w porównaniu z jej stężeniem w prawidłowych tkankach rogówki. Wskazuje to na wzrost produkcji tlenku azotu w przebiegu FECD. Przypuszcza się, że wzrost stężeń ROS i RNS może wywoływać zmiany w strukturach DNA, zaburzać ekspresję niektórych genów oraz zwiększać aktywność apoptotyczną komórek śródbłonka rogówki, powodując powstanie FECD (7, 8).

2. Mechanizmy obrony antyoksydacyjnej w przebiegu FECD

Ze względu na powszechność występowania ROS i RNS oraz produktów ich aktywności w organizmie wyewoluowały mechanizmy utrzymujące stężenie tych cząsteczek na odpowiednio niskim poziomie. Istnieją szlaki enzymatyczne i nieenzymatyczne ochrony organizmu przed stresem oksydacyjnym, które obejmują neutralizację ROS i RNS, jak również mechanizmy naprawy lub eliminacji produktów reakcji ROS i RNS (9). Do związków uczestniczących w neutralizacji ROS zalicza się przede wszystkim dysmutazę ponadtlenkową (SOD), katalazę (CAT), peroksydazę glutationową (Gpx) oraz peroksyredoksynę (Prx).

Szlaki enzymatycznej ochrony przed stresem oksydacyjnym obejmują także usuwanie szkodliwych związków powstających w wyniku aktywności ROS. Enzymy takie jak transferaza S-glutationowa oraz dehydrogenaza aldehydowa (ALDH) biorą udział w dezaktywacji produktów peroksydacji lipidów, tym samym blokując dalsze reakcje tych związków w komórce. Ważną rolę w neutralizacji ROS i RNS odgrywają również nieenzymatyczne systemy ochrony, do których należą tokoferol, kwas askorbiny, retinoidy, karotenoidy, glutation i wiele innych substancji o właściwościach redukujących. W mechanizmach ochrony antyoksydacyjnej biorą udział także białka odpowiedzialne za wiązanie jonów metali grup przejściowych: ferrytyny, metalotioneina oraz albuminy. Jony metali w wyniku związania z białkami przyjmują postać niereaktywną, co stanowi element zapobiegający wytwarzaniu rodników hydroksylowych w reakcji Fentona (10, 11). Mechanizmy chroniące przed stresem oksydacyjnym oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych mogą różnić się w poszczególnych tkankach.

Ze względu na wysoką ekspozycję na promieniowanie UV oraz wysokie stężenie tlenu rogówka narażona jest na akumulację ROS i RNS (7, 12). Przypuszcza się, że to właśnie zaburzenia w równowadze prooksydacyjno-antyoksydacyjnej odgrywają istotną rolę w patogenezie FECD. Badania na komórkach śródbłonna rogówki z klinicznie rozpoznaną FECD przyniosły wyniki sugerujące nieprawidłową ekspresję niektórych enzymów w porównaniu do ich ekspresji u osób z grupy kontrolnej. W rogówce z klinicznie rozpoznaną FECD stwierdzono obniżony poziom mRNA m.in. białek odpowiedzialnych za ochronę przed stresem oksydacyjnym, takich jak: transferaza S-glutationowa, dehydrogenaza aldehydowa klasy trzeciej (ALDH3A1), ferrytyna, oraz kilku białek łańcucha oddechowego – w porównaniu do ich poziomu w rogówce prawidłowej. W tych samych badaniach zaobserwowano również spadek poziomu transkryptu białka szoku cieplnego 70 kDa, które jest głównym białkiem opiekuńczym (chaperonem) występującym w cytoplazmie, chroniącym komórki przed apoptozą (13). Inne badania wskazują na zmniejszenie ekspresji peroksyredoksyn (PRX) w śródbłoku rogówki oraz błonie Descemeta FECD w porównaniu z prawidłowymi komórkami (6, 14). Peroksyredoksyny są rodziną białek o właściwościach antyoksydacyjnych, uczestniczą w usuwaniu nadtlenu wodoru z komórek oraz hamowaniu apoptozy indukowanej przez ROS (15). Zaobserwowano również obniżenie poziomu przeciwutleniaczy, takich jak metalotioneina 3., MnSOD, cytoplazmatyczna reduktaza tioredoksyny (TrxR1) oraz cytoglobina (6). Reduktaza tioredoksyny (TrxR) katalizuje redukcję tioredoksyny, która reguluje poziom utlenienia wielu substancji antyoksydacyjnych, w tym peroksyredoksyn oraz metalotionein. Substratami dla TrxR są także nadtlenuki kwasów tłuszczowych, anionorodnik ponadtlenkowy, witamina E, witamina C. TrxR bierze również udział w regulacji niektórych czynników transkrypcyjnych, przez co uczestniczy w kontroli ekspresji wielu genów ważnych dla prawidłowego funkcjonowania komórek (16).

Proces regulacji syntezy białek może odbywać się na różnych etapach. Ważną rolę we włączaniu transkrypcji niektórych genów kodujących enzymy biorące udział w detoksykacji ROS i RNS oraz produktów ich aktywności odgrywa czynnik transkrypcyjny Nrf2. Stwierdzono, że Nrf2 indukuje transkrypcję poprzez oddziaływanie z elementem odpowiedzi na antyoksydanty, umiejscowionym

w regionie 5' genów kodujących białka ochrony antyoksydacyjnej oraz uczestniczących w metabolizmie ksenobiotyków. Wiązanie czynnika transkrypcyjnego Nrf2 z ARE aktywuje transkrypcję wielu przeciwutleniaczy, takich jak: peroksyredoksyna, reduktaza tioredoksyny, SOD, czy metalotioneina 3 (3, 17). W rogówce z klinicznie rozpoznaną FECD stwierdzono niższy poziom białka Nrf2 niż w rogówkach osób z grupy kontrolnej. Zauważono również spadek mRNA HO-1 – ważnego czynnika antyoksydacyjnego regulowanego przez Nrf2. Wydaje się, że stres oksydacyjny może wpływać na zaburzenia poziomu tego białka, tym samym obniżając potencjał antyoksydacyjny rogówki osób z klinicznie rozpoznaną FECD (6, 18). Badania *in vitro* sugerują, że nadtlenek wodoru może obniżyć ekspresję Nrf2 oraz powodować wzrost uszkodzeń DNA w komórkach śródbłonna rogówki (6). Wzrost poziomu stresu oksydacyjnego w rogówce z klinicznie rozpoznaną FECD może powodować zmiany poziomu białka Nrf2, w konsekwencji prowadząc do zmiany poziomu enzymów antyoksydacyjnych. Zmniejszenie zdolności komórek do neutralizacji ROS i RNS może powodować akumulację tych związków, wskutek czego dochodzi do uszkodzenia składników komórkowych oraz zmiany morfologii komórek śródbłonna. Stwierdzono również, że Nrf2 ma zdolność hamowania apoptozy indukowanej przez stres oksydacyjny w niektórych typach komórek (19, 20). Wyniki te pozwalają przypuszczać, że zaburzenia tego białka wpływają na zmniejszenie liczby komórek śródbłonna rogówki z klinicznie rozpoznaną FECD.

Akumulacja ROS i RNS i jednocześnie obniżenie potencjału antyoksydacyjnego wskazują na związek między stresem oksydacyjnym a FECD. Zmiana zdolności antyoksydacyjnych organizmu może prowadzić do uszkodzenia składników komórkowych, zmniejszonej ekspresji białek biorących udział w neutralizacji ROS i RNS oraz regulujących proces apoptozy.

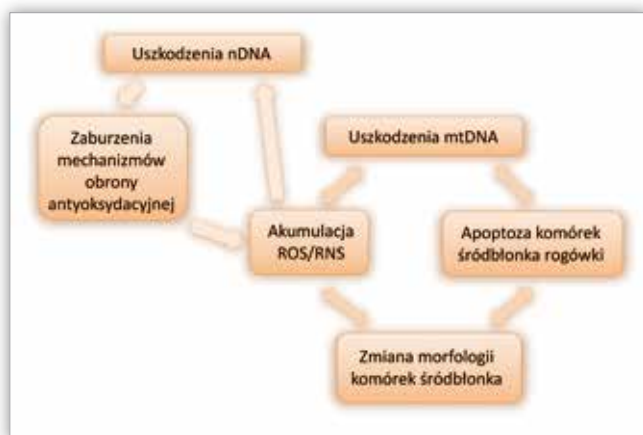
3. Uszkodzenia DNA w przebiegu FECD

ROS i RNS mogą powstawać w wielu procesach biologicznych. Do utworzenia tych związków może dojść pod wpływem działania czynników środowiskowych takich jak: promieniowania UV i jonizujące, toksyny, jak również w wyniku fizjologicznych procesów komórkowych. Głównym endogennym źródłem ROS są mitochondria. W tych organellach odbywa się większość procesów metabolizmu komórkowego. Mitochondria są głównym zapleczem energetycznym komórki. To w nich odbywa się fosforylacja oksydacyjna, podczas której wytwarzana energia akumulowana jest w postaci ATP. Zaburzenia w funkcjonowaniu tej organelli mogą prowadzić do powstawania znacznej ilości ROS. ROS i RNS stanowią istotne elementy szlaków sygnałowych w komórce, jednak ze względu na wysoką reaktywność są również związkami potencjalnie szkodliwymi. Dlatego stężenie tych molekuł musi znajdować się pod ścisłą kontrolą (11).

Mitochondria mają swój własny genom, szlaki replikacji i transkrypcji. Mitochondrialny DNA (mtDNA) jest zamkniętą, dwuniciową cząsteczką zawierającą informacje o 13 podjednostkach szlaku oksydacyjnego, 22 tRNA i 2 rRNA. Jednak ze względu na bliskie sąsiedztwo łańcucha oddechowego mtDNA częściej niż jądrowy DNA (nDNA) ulega modyfikacjom. System naprawy uszkodzeń mtDNA jest mniej efektywny w porównaniu do nDNA. Z tego względu mtDNA jest bardziej narażone na uszkodzenia oksydacyjne. Istnieją liczne przesłanki wskazujące na związek między akumulacją uszkodzeń mtDNA a starzeniem

się organizmu oraz chorobami związanymi z wiekiem (11). Z upływem lat dochodzi do akumulacji ROS, które reagują ze składnikami komórkowymi, w tym z mtDNA, powodując mutacje kwasu nukleinowego (21).

Badania na komórkach śródbłonka rogówki osób z klinicznie rozpoznaną FECD wskazują na wzrost poziomu uszkodzeń oksydacyjnych DNA w porównaniu do poziomu tych uszkodzeń u osób z grupy kontrolnej, dobranej wiekowo (5). Stwierdzono także, że zmiany te były większe w komórkach położonych w pobliżu *cornea guattata*. Znaczna część tych zmian dotyczyła mtDNA, to sugeruje, że mtDNA jest istotnym celem modyfikacji oksydacyjnych (6). Wyższy poziom uszkodzeń mtDNA wynikać może z bliskości procesu fosforylacji oksydacyjnej, źródła ROS. Stwierdzony spadek niektórych związków antyoksydacyjnych oraz mniej efektywny system naprawy uszkodzeń w porównaniu z jądrowym DNA prawdopodobnie przyczyniają się do nagromadzenia nieprawidłowości w mtDNA. Rosnąca liczba mutacji i delecji w mtDNA wraz z wiekiem może być związana z ujawnianiem się FECD po 40. roku życia. Ze względu na niewielki udział sekwencji niekodujących w mtDNA istnieje duże ryzyko, że powstałe modyfikacje dotyczą genów białek szlaku fosforylacji oksydacyjnej. Może to wywoływać dalsze zaburzenia w funkcjonowaniu komórek rogówki z klinicznie rozpoznaną FECD, powodując „błędne koło” stresu oksydacyjnego. W badaniach nad FECD stwierdzono zmniejszoną liczbę mitochondriów w śródbłonku rogówki oraz spadek aktywności oksydazy cytochromu w porównaniu do tych samych wartości u osób z grupy kontrolnej (3, 6).



Ryc. 2. Schemat przedstawiający mechanizmy patogenezy dystrofii Fuchsa. Nadmiar reaktywnych form tlenu i azotu (ROS i RNS) powoduje uszkodzenie mitochondrialnego DNA (mtDNA), w konsekwencji tego dochodzi do śmierci komórek rogówki na drodze apoptozy oraz zmian w morfologii komórek śródbłonka, charakterystycznych dla rogówki z dystrofią Fuchsa; nDNA – jądrowy DNA.

Fig. 2. The underlying molecular mechanisms of Fuchs endothelial corneal dystrophy (FECD). Accumulation of reactive oxygen (ROS) and nitric (RNS) species induces oxidative mitochondrial DNA (mtDNA) damage, leading to apoptosis of corneal cells and changes in the morphology of corneal endothelial cells seen in FECD; nDNA – nuclear DNA.

Wydaje się, że w wyniku uszkodzeń mtDNA, pod wpływem stresu oksydacyjnego, dochodzi do utraty integralności wewnętrznej błony mitochondrialnej i aktywacji szlaków apoptotycznych. Możliwe jest, że zmiany spowodowane przez stres

oksydacyjny powodują uaktywnienie szlaków śmierci komórki z udziałem mitochondriów, w wyniku tego dochodzi do spadku liczby komórek śródbłonka rogówki z klinicznie rozpoznaną FECD (ryc. 2.). Wyniki badań *ex vivo* sugerują, że stres oksydacyjny może również wpływać na zmiany w wielkości i kształcie komórek śródbłonka rogówki z klinicznie rozpoznaną FECD (6).

4. Podsumowanie

Pomimo że FECD została po raz pierwszy zdiagnozowana ponad 100 lat temu, do tej pory nie udało się poznać przyczyn powstawania tego schorzenia. Dotychczasowe badania sugerują, że jest to choroba wieloczynnikowa, u podłoża której leżą zarówno czynniki genetyczne, jak i stres oksydacyjny. Wydaje się, że hipotezę tę potwierdzają doniesienia o akumulacji ROS i RNS w tkance rogówki z klinicznie rozpoznaną FECD, zaburzeniach w funkcjonowaniu niektórych enzymów antyoksydacyjnych oraz wzroście uszkodzeń DNA u chorych. Szczególnie istotne wydają się zaobserwowane modyfikacje mitochondrialnego DNA. Nagromadzenie mutacji w mtDNA może stanowić czynnik patogenezy FECD, to wyjaśniałoby późne ujawnienie się choroby. Otwartą kwestią pozostaje zróżnicowanie płciowe FECD. Nie ma jednoznacznej odpowiedzi, dlaczego choroba częściej dotyka kobiety. Konieczne są dalsze badania, które pozwoliłyby na stwierdzenie, czy wzrost stresu oksydacyjnego w rogówce FECD jest bezpośrednią przyczyną tej choroby, czy może jest następstwem zmian powodujących zaburzenia systemów antyoksydacyjnych. Wydaje się, że poznanie mechanizmów nieprawidłowości w komórkach śródbłonka rogówki z klinicznie rozpoznaną FECD jest szczególnie istotne dla opracowania skutecznej terapii w przyszłości.

Praca wykonana w ramach grantu MNiSW
nr N N402 591840

Piśmiennictwo:

1. Yuen H.K., Rassier C.E., Jardeleza M.S., Green W.R., de la Cruz Z., Stark W.J., et al.: *A morphologic study of Fuchs dystrophy and bullous keratopathy*. *Cornea* 2005; 24: 319–327.
2. Elhalis H., Azizi B., Jurkunas U.V.: *Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy*. *Ocul. Surf.* 2010; 8: 173–184.
3. Schmedt T., Silva M.M., Ziaei A., Jurkunas U.: *Molecular bases of corneal endothelial dystrophies*. *Exp. Eye Res.* 2012; 95: 24–34.
4. Thalamuthu A., Khor C.C., Venkataraman D., Koh L.W., Tan D.T., Aung T., et al.: *Association of TCF4 gene polymorphisms with Fuchs' corneal dystrophy in the Chinese*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011; 52: 5573–5578.
5. Eghrari A.O., Gottsch J.D.: *Fuchs' corneal dystrophy*. *Expert. Rev. Ophthalmol.* 2010; 5: 147–159.
6. Jurkunas U.V., Bitar M.S., Funaki T., Azizi B.: *Evidence of oxidative stress in the pathogenesis of fuchs endothelial corneal dystrophy*. *Am. J. Pathol.* 2010; 177: 2278–2289.
7. Buddi R., Lin B., Atilano S.R., Zorapapel N.C., Kenney M.C., Brown D.J.: *Evidence of oxidative stress in human corneal diseases*. *J. Histochem. Cytochem.* 2002; 50: 341–351.
8. Azizi B., Ziaei A., Fuchsluger T., Schmedt T., Chen Y., Jurkunas U.V.: *p53-regulated increase in oxidative-stress-induced apoptosis in Fuchs endothelial corneal dystrophy: a native tissue model*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2011; 52: 9291–9297.

9. Sies H.: *Oxidative stress: oxidants and antioxidants*. Exp. Physiol. 1997; 82: 291–295.
10. Finaud J., Lac G., Filaire E.: *Oxidative stress: relationship with exercise and training*. Sports Med. 2006; 36: 327–358.
11. Finkel T., Holbrook N.J.: *Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing*. Nature 2000; 408: 239–247.
12. Shoham A., Hadziahmetovic M., Dunaief J.L., Mydlarski M.B., Schipper H.M.: *Oxidative stress in diseases of the human cornea*. Free Radical Biology & Medicine 2008; 45: 1047–1055.
13. Gottsch J.D., Bowers A.L., Margulies E.H., Seitzman G.D., Kim S.W., et al.: *Serial analysis of gene expression in the corneal endothelium of Fuchs' dystrophy*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2003; 44: 594–599.
14. Jurkunas U.V., Rawe I., Bitar M.S., Zhu C., Harris D.L., Colby K., et al.: *Decreased expression of peroxiredoxins in Fuchs' endothelial dystrophy*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2008; 49: 2956–2963.
15. Wood Z.A., Schröder E., Robin Harris J., Poole L.B.: *Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins*. Trends Biochem. Sci. 2003; 28: 32–40.
16. Nordberg J., Arnér E.S.: *Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system*. Free Radic. Biol. Med. 2001; 31: 1287–1312.
17. Ishii T., Itoh K., Takahashi S., Sato H., Yanagawa T., Katoh Y., et al.: *Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages*. J. Biol. Chem. 2000; 275: 16023–16029.
18. Zhang J., Ohta T., Maruyama A., Hosoya T., Nishikawa K., Maher J.M., et al.: *BRG1 interacts with Nrf2 to selectively mediate HO-1 induction in response to oxidative stress*. Mol. Cell. Biol. 2006; 26: 7942–7952.
19. Li J., Johnson D., Calkins M., Wright L., Svendsen C., Johnson J.: *Stabilization of Nrf2 by tBHQ confers protection against oxidative stress induced cell death in human neural stem cells*. Toxicol. Sci. 2005; 83: 313–328.
20. Chen W., Sun Z., Wang X.J., Jiang T., Huang Z., Fang D., et al.: *Direct interaction between Nrf2 and p21(Cip1/WAF1) upregulates the Nrf2-mediated antioxidant response*. Mol. Cell. 2009; 34: 663–673.
21. Wei Y.H., Lee H.C.: *Oxidative Stress, Mitochondrial DNA Mutation, and Impairment of Antioxidant Enzymes in Aging*. Experimental Biology and Medicine 2002; 227: 671–682.

Praca wpłynęła do Redakcji 11.12.2013 r.(1449)
Zakwalifikowano do druku 23.09.2013 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr n. med. Anna Kamińska
Samodzielny Publiczny Kliniczny Szpital Okulistyczny
ul. Sierakowskiego 13
03-709 Warszawa
e-mail: anna.kaminska1@wum.edu.pl