

# Aspekty genetyczne zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem

## *Genetic aspects of age-related macular degeneration*

Katarzyna Janik-Papis<sup>1</sup>, Małgorzata Zaraś<sup>2</sup>, Anna Skłodowska<sup>2</sup>, Magdalena Ulińska<sup>2</sup>, Anna I. Borucka<sup>2</sup>, Janusz Błasiak<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Z Katedry Genetyki Molekularnej Uniwersytetu Łódzkiego

Kierownik: prof. dr hab. Janusz Błasiak

<sup>2</sup> Z Katedry i Kliniki Okulistyki II Wydziału Lekarskiego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Kierownik: prof. dr. hab. n. med. Jerzy Szafflik

### Summary:

Age-related macular degeneration (AMD) is a progressive disease characterized in macula photoreceptors degeneration that leads to loss of central vision in elderly people, especially in developed countries. Many environmental and genetic factors have influence on the occurrence and progression of AMD as well as its form: either dry or exudative. Despite of the extensive research, etiology and molecular background of AMD are poorly understood. Due to advanced biochemical and biophysical techniques some clinical aspects of AMD have been described in details, however, the genetic basis of AMD is still under investigation. The results of some research indicate that the genes, which products may play a role in the pathogenesis of AMD could be *CFB*, *C2*, *CFHR1*, *CFHR3*, *C3*, *ABCR*, *APOE*, *CCL2*, *CFH*, *CX3CR1*, *ERCC6*, *FSCN2*, *HMCN1*, *HTRA1*, *LOC387715*, *PLEKHA1*, *TIMP3* and *VEGF-A*. The variability of these genes, expressed by their polymorphisms, may also contribute to the occurrence and progression of AMD. Studying of genetic aspects of AMD may bring results playing a role in the prevention, diagnostics and treatment of this disease.

### Słowa kluczowe:

degeneracja plamki, AMD, czynniki genetyczne, polimorfizm.

### Key words:

age-related macular degeneration, AMD, genetic factors, polymorphism.

## Wprowadzenie

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (age-related macular degeneration – AMD) jest przewlekłą, intensywnie postępującą chorobą polegającą na degeneracji fotoreceptorów w wyniku zmian zwyrodnieniowych komórek nabłonka barwnikowego siatkówki (RPE), błony Brucha i naczyńiówki. Do znanych czynników ryzyka należą: wiek powyżej 60 lat, predyspozycje genetyczne (obciążenie rodzinne), palenie papierosów, płeć żeńska, nadciśnienie tętnicze, wysoki poziom lipidów w surowicy krwi, dieta uboga w antyoksydanty, nadużywanie alkoholu, nadmierne narażenie na światło słoneczne i stres oksydacyjny. Na stres ten szczególnie narażone są fotoreceptory, co ma związek z wysokim zużyciem tlenu przez te komórki, wysoką zawartością wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w zewnętrznych segmentach komórek RPE i z silną ekspozycją na światło słoneczne. Wszystko to przyczynia się do kumulacji z wiekiem uszkodzeń DNA i zaburzeń ekspresji wielu genów, prowadząc do rozwoju AMD. Na rozwój AMD składa się wiele czynników genetycznych i środowiskowych, a objawy charakterystyczne dla AMD ma wiele dziedzicznych dystrofii siatkówki, które leczy się inaczej niż AMD. Do tych chorób zalicza się dystrofię plamki Stargardta (STGD), w której występują mutacje w genie *ABCR* (kodującym transbłonowy transporter zależny od ATP) i *PROML1* (kodującym promininę 1), dystrofię dna oka Sorsby'ego

(SFD), której przyczyną jest mutacja w genie tkankowego inhibitora metaloproteiny-3 (*TIMP3*), chorobę Besta (BD), z mutacjami w genie *VMD2* kodującym bestrofinę 1, dystrofię siatkówki Doyné'a (DRD), której przyczyną jest mutacja w genie *EFEMP1*, kodującym fibulinę 3, starczą degenerację siatkówki (L-ORD), w której obserwuje się udział mutacji w genie *CTRP5*, kodującym adhezynę, dzięki której RPE zakotwicza się w błonie Brucha. Z tych względów diagnozowanie AMD i prognozowanie jej przebiegu powinno uwzględniać aspekty genetyczne tej choroby.

### Znaczenie zmienności genetycznej dla patogenezy AMD

Gen *CFH* (*locus* 1q32-q32.1) koduje składnik H komplementu. *CFH* reguluje alternatywną drogę aktywacji komplementu zarówno w osoczu, jak i na powierzchni komórek. Jego funkcja polega na wiązaniu składnika C3b, przyspieszając w ten sposób rozkład konwertazy C3bBb. Ponadto *CFH* jest kofaktorem składnika I komplementu (*CFI*), który również odgrywa rolę inhibitora C3b. W przypadku AMD w druzach i w błonie Brucha osób chorych znajdują się odłożone składniki komplementu, a nawet całe kompleksy atakujące błonę komórkową (*MAC*), co dowodzi, że w formowanie druzów i rozwój AMD mogą mieć wkład zmiany zapalne i zaburzenia działania komplementu. Dzieje się tak dlatego, że związki odkładane w druzach, szczególnie białko

C-reaktywne,  $\beta$ -amyloid i lipofuscyna, aktywują komplement, zapoczątkowując kaskadę gromadzenia się następujących składników i degradację fotoreceptorów. Wszelkie mutacje znoszące bądź osłabiające prawidłowe działanie CFH powodują, że kaskada tworzenia kompleksu C5b-9 postępuje, podczas gdy powinna być powstrzymana przez CFH. Najszerzej badanym polimorfizmem podnoszącym ryzyko zachorowania na AMD jest Y402H (1277T>C, rs1061170) w eksonie 9 genu *CFH*. Polimorfizm ten występuje w regionie wiążącym heparynę i białko C-reaktywne, które zwiększają powinowactwo CFH do składnika C3b. Z tego powodu mutacja ta osłabia funkcję biologiczną CFH jako inhibitora kaskady komplementu, a u prawie 50% osób chorych na AMD występuje allel H. Układ HH w populacji środkowoeuropejskiej predysponuje do szybkiego rozwinięcia się i postępu bardziej agresywnej, wysiękowej formy AMD. W przypadku formy suchej polimorfizm Y402H predysponuje do wystąpienia miękkich druzów (1). W populacji mieszkańców Ameryki Środkowej badanie rozkładu genotypów wykazało, że polimorfizm Y402H nie był czynnikiem ryzyka wczesnego (przed 60. rokiem życia) rozwinięcia się AMD, ale allel H, już w jednej kopii, silnie predysponował do rozwinięcia się AMD w obojgu oczach. Zaobserwowano efekt synergistyczny, który nasilał rozwój AMD, powodowany wzajemnym oddziaływaniem białka CFH kodowanym przez formę alleliczną H z białkiem ERCC6, kodowanym przez wariant alleliczny C w przypadku polimorfizmu -6530C>G (rs3793784). Inny polimorfizm, C>G w intronie 15 (rs380390), ma również wpływ na ryzyko zachorowania na AMD. Allel C podnosi ryzyko zachorowania o 45%, a w przypadku innego polimorfizmu, rs1329428, allel C zwiększa to ryzyko o 61% w stosunku do całej populacji (2). Niedawno odkryty polimorfizm C>T w intronie 14 (rs1410996) ma również znaczenie w predyspozycji do AMD, szczególnie u ludzi rasy białej, a mutacja synonimiczna A473A (rs2274700) w eksonie 10 (rs2274700) wykazuje silną korelację z wystąpieniem AMD. Również polimorfizm zmiany sensu I62V (2915T>G, rs800292) w eksonie 2 wykazuje związek ze wzrostem ryzyka zachorowania na AMD (3). W badaniach grupy chorych, u których AMD występuje w rodzinie z dużą częstością (Family Age-Related Macular Degeneration Study – FARMS) i osób, w rodzinie których nikt nie chorował na AMD (Beaver Dam Eye Study – BDES), pozwoliło na stwierdzenie silnego związku polimorfizmu Y402H z wystąpieniem AMD, a allel H podnosił ryzyko zachorowania. Nie zaobserwowano tej zależności w przypadku polimorfizmu D936E (2915T>G, rs1065489) w eksonie 15 i I62V, jednakże kombinacja G/C/T wykazywała silną korelację z wystąpieniem AMD, wielkością i typem druzów. Natomiast haplotyp T/T/T, zawierający dziki allel T polimorfizmu Y402H, wykazywał działanie ochronne, a u osób chorych na AMD miał związek z małymi rozmiarami druzów. W predyspozycji do AMD mają znaczenie również inne polimorfizmy genu *CFH*: A>G w intronie 9 (rs7535263) i niedawno odkryty A>G (rs1280514) oraz C>T w sekwencji 5' UTR genu *CFH* (rs3753394) (4).

Gen *CFB* (*locus* 6p21.3) koduje czynnik B komplementu – bogatą w reszty glicyny -glikoproteinę osocza. Bierze ona udział w alternatywnej drodze aktywacji komplementu, a jej substratami są czynniki C3 i C5. W warunkach fizjologicznych, w prawidłowych komórkach RPE, ekspresja CFB jest na niskim poziomie. Z wiekiem poziom CFB w komórkach RPE wzrasta,

co prowadzi do odkładania się czynników C3 i C3a w błonie Brucha i aktywacji kaskady komplementu, którego reakcje przyczyniają się do rozwoju AMD. Wykazano związek niektórych polimorfizmów z predyspozycją do AMD. Allel H polimorfizmu L9H (26T>A, rs4151667) i allel Q polimorfizmu R32Q (95G>A, rs641153), szczególnie z allelem D polimorfizmu E318D genu *C2*, znacząco obniżają ryzyko zachorowania na AMD (5).

Gen *C2* (*locus* 6p21.3) koduje składnik C2 klasycznej drogi aktywacji dopełniacza. Czynnikiem C2 jest cięty przez czynnik C1 na C2b i C2a – serynową proteazę, która razem z czynnikiem C4b tworzy konwertazę C2 lub C5. W przypadku AMD wykazano ochronny wpływ allelu kodującego asparaginę polimorfizmu E318D (rs9332739), szczególnie w połączeniu z allelem H wcześniej wspomnianego polimorfizmu L9H genu *CFB* (6). Również allel T polimorfizmu G>T w intronie 10 (rs547154) znacząco obniża ryzyko zachorowania na AMD, a efekt ten jest nasilony w przypadku jednoczesnego nosicielstwa allelu Q polimorfizmu R32Q genu *CFB* (6).

Czynniki CFHR1 i CFHR3 (related protein – H) są kodowane przez gen leżący w *locus* 1q31, za genem *CFH*, którego sekwencja 3'cDNA jest homologiczna do sekwencji 3'cDNA *CFHR*. CFHR1 i CFHR3 to 330-aminokwasowe sekrecyjne białka, różniące się od siebie kombinacją 5 tandemowo ułożonych powtórzeń sekwencji najwyższej zgodności SCR (short consensus repeats). Wszystkie białka z grupy CFHR są zaangażowane w regulację aktywacji komplementu i metabolizm lipidów – procesy, których nieprawidłowości prowadzą do rozwoju patologii m.in. AMD. W przypadku mokrej postaci AMD wykazano ochronny wpływ polimorfizmu 84del polegającego na 84-nt delecji w sekwencji położonej w stronę 5' genu *CFHR1/CFHR3*, dokładnie między genem *CFH* a *CFHR1/CFHR3*. Delecja ta ma wpływ tylko na poziom ekspresji *CFHR*. Osoby będące nosicielami tego polimorfizmu wykazywały prawidłowy poziom czynnika CFH, ale jednocześnie posiadały obniżoną aktywność komplementu. Obserwacja ta sugeruje, że CFHR1/CFHR3 jest pozytywnym regulatorem komplementu i dodatkowo potwierdza udział nadmiernej aktywacji komplementu w patogenezie AMD (7).

Gen *C3* (*locus* 19p13.3) koduje składnik komplementu C3, kluczowy w aktywacji komplementu zarówno na drodze alternatywnej, jak i klasycznej. C3 po aktywacji przez konwertazę C3 rozpada się na składniki C3b i C3a, z których C3a (anafilotoksyna) jest głównym białkiem ostrej fazy biorącym udział w miejscowej reakcji zapalnej. Występujący z dużą częstością (22% populacji) funkcjonalny polimorfizm R102G (rs2230199), znany również jako R80G, pociągający za sobą utratę 22 aminokwasów domeny sygnałowej białka, jest silnie związany z AMD – allel kodujący glicynę znacząco obniża ryzyko zachorowania na tę chorobę (8).

VEGF-A (naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu A) spośród całej rodziny białek VEGF ma najsilniejsze właściwości stymulujące procesy neowaskularyzacyjne, powodując postęp formy wysiękowej AMD. Transkrypt genu *VEGF-A* (*locus* 6p21.3) jest alternatywnie składany, dając 3 izoformy białka o długościach: 189, 165 i 121 aminokwasów. VEGF-A, zbudowany z 165 aminokwasów, jest dominującą izoformą ulegającą ekspresji w oku, gdzie ulega dalszemu składaniu, tworząc formę posiadającą na C-terminalnym końcu sekwencję z eks-  
onu 8 (izoforma „a”) lub z eksonu 9 (izoforma „b”). Izoforma

VEGF-A165a wykazuje właściwości proangiogenne, podczas gdy izoforma VEGF-A165b ma właściwości antyangiogenne. Stwierdzono podwyższony poziom VEGF-A165 u chorych na AMD, jednak nie zmierzono wzajemnych stosunków ilościowych obu izoform (9). Rozróżnienie izoformy VEGF-A165a od izoformy VEGF-A165b jest bardzo istotne, ponieważ dzisiejsze terapie anty-VEGF nie są w stanie odróżnić formy proangiogennej od formy antyangiogennej. Z tego powodu opracowuje się terapię opartą na siRNA, która zahamuje selektywnie ekspresję VEGF-A165a. W dodatku zaobserwowano wiele polimorfizmów typu SNP predysponujących do wystąpienia i/ lub szybkiego postępu postaci wysiękowej AMD. Analiza 14 polimorfizmów w promotorze genu *VEGF-A* wykazała, że genotyp +674CC oraz układy haplotypów C/T/C/C/T i T/C/A/C/C w pozycjach +674, +4618, +5092, +9162 i +9512 predysponują do wystąpienia AMD. Dodatkowo allele -460T, -417T, -172C, -165C, -160C, -152G, -141A, -116A, +405C silnie predysponują do rozwoju AMD. Haplotyp T/C/A/C/T był najczęściej spotykany w grupie kontrolnej. Analiza funkcjonalna wykazała, że różne haplotypy, w przypadku polimorfizmów w pozycjach -460/+405, modyfikują podstawowy poziom ekspresji z promotora. Polimorficzne allele powodują podwyższenie poziomu transkrypcji nawet o 71% w stosunku do alleli typu dzikiego. Ponadto allel +405C i układ -460TT/+405CC silnie predysponują do rozwoju AMD już w wieku młodzieńczym (10).

Gen *FSCN2* (*locus* 17q25) koduje siatkówkową fascynę – białko wiążące aktynę. Fascyna odgrywa kluczową rolę w podłużnym wzroście filopodiów neuronów, a w siatkówce jej rola polega na udziale w formowaniu dysków fotoreceptorów. Promotor tego genu nie posiada kasety TATA, posiada natomiast moduły odpowiedzi na kwasy retinolowe RARE (retinoic acid response element) oraz inne sekwencje warunkujące specyficzność tkankową w ekspresji tego genu w komórkach siatkówki. *FSCN2* jest genem, którego polimorfizmy zmiany sensu G167D, R172W, Y258Stop, 208delG występują ze zwiększoną częstością w rodzinnych AMD (11).

Gen *ERCC6* (*locus* 10q11) koduje ERCC6, helikazę zależną od ATP. Bierze ona udział w naprawie DNA poprzez wycinanie nukleotydów (NER). Prawidłowa funkcja ERCC6 jest niezbędna w utrzymaniu stabilności genomowej fotoreceptorów, które są komórkami szczególnie narażonymi na uszkodzenia DNA z powodu wysokiego poziomu stresu oksydacyjnego (oksydacyjne uszkodzenia DNA) i ekspozycji na światło UV (dimery cyklobutanowe i (6-4)-fotoprodukty). Dodatkowo fotoreceptory są komórkami nieproliferującymi, nie mają więc sprawnych systemów kontroli uszkodzeń DNA włączanych podczas punktów kontrolnych cyklu komórkowego. Polimorfizm -6530G>G (rs3793784) w regionie 5' flankującym genu *ERCC6* zmienia poziom ekspresji helikazy ERCC6, ponieważ allel C obecny w sekwencji regulatorowej sprawia, że staje się ona rozpoznawalna dla czynników transkrypcyjnych SP1 i GATA-1, podczas gdy allel G zmienia tę sekwencję na rozpoznawalną tylko dla czynnika OCT-1, który silnie pobudza transkrypcję tego genu, znacząco podwyższając poziom mRNA. Dodatkowo białko ERCC6 kodowane przez wariant alleliczny C oddziałuje z białkiem CFH, a w przypadku wystąpienia formy allelicznej C polimorfizmu rs380390 występującego w intronie 15 genu *CFH* potęguje jego wpływ na rozwój AMD (12).

Gen *HMCN1* (*locus* 1q24-q26) koduje hemicentinę-1 (fibulinę 6), ulega ekspresji m.in. w komórkach barwnikowych śródbłonka i nabłonka siatkówki. Fibulina 6 jest glikoproteiną macierzy zewnątrzkomórkowej i wiąże się z C-końcową częścią fibronektyny wiążącej heparynę. Wśród zmian sekwencji tego genu transycja 16263G>A w eksonie 104 (Q5345R) została związana z rodzinie występującej AMD (13). Analiza polimorfizmów rs743137 (C>T w intronie 36), rs1475113 (A>G w intronie 4), rs721153 (G>T w intronie 86) i rs680638 (C>T w intronie 105) genu *HMCN1* grupy chorych FARMS i BDES sugeruje silny związek z AMD jedynie w przypadku polimorfizmu rs743137. Badania haplotypów tych 4 polimorfizmów wykazały, że żaden z 16 możliwych układów nie predysponuje do AMD w grupie BDES, ale w grupie FARMS aż 12 kombinacji miało znaczenie dla rozwoju tej choroby, a szczególnie A/A/G/T i G/A/G/T korelowały z bardziej agresywną formą choroby, natomiast G/A/T/C i G/A/G/T – z większymi druzami w plamce (14).

Gen *APOE* (*locus* 19q13.2) koduje 34 kDa apolipoproteinę E, bogatą w argininę część osoczowych lipoprotein o dużej gęstości ( $\alpha$ -lipoprotein, HDL), lipoprotein o bardzo małej gęstości (pre- $\beta$ -lipoproteiny, VLDL) i chylomikronów. Gen *APOE* jest silnie polimorficzny, a polimorfizmy w eksonie 4 *C112R* (rs429358) i *R158C* (rs7412) determinują powstanie trzech izoformicznych białek, takich jak: E2 (*112C*, *158C*), E3 (*112C*, *158R*) i E4 (*112R*, *158R*), różniących się strukturą i funkcją. Izofорма E4 jest skorelowana z wysoką zawartością cholesterolu i chorobami sercowo-naczyniowymi, neurodegeneracyjnymi (szczególnie z chorobą Alzheimera). ApoE została wykryta w miękkich druzach we wczesnej fazie AMD. U myszy, u których wyłączono gen *APOE*, zaobserwowano wiele objawów degeneracji siatkówki, bardzo podobnych do zmian zachodzących w AMD. Polimorfizmy C112R i R158C mogą mieć również znaczenie w patogenezie AMD. U osób bez AMD, w porównaniu z chorymi na AMD, stwierdzono większy udział izoformy E4 (112R). Nie zaobserwowano różnic w dystrybucji izoformy E2 (R158C) między chorymi na AMD a osobami w grupie kontrolnej. Sugeruje to, że izofорма E4 ApoE może działać ochronnie w przypadku AMD, a hipotezę tę potwierdzono w badaniach nad wpływem izoform ApoE na ekspresję chemokiny Ccl2, receptora CX3CR1 i czynnika VEGF-A w ludzkich komórkach RPE *in vitro*. W badaniu tym stwierdzono, że E4 najsilniej ze wszystkich hamuje ekspresję Ccl2 i VEGF-A, podczas gdy żadna izofорма ApoE nie wpływa na poziom ekspresji receptora CX3CR1. Osoby o genotypie RR w pozycji 112 zatem mogą należeć do grupy niskiego ryzyka zachorowania na AMD, szczególnie jej wysiękowej postaci (15).

Gen *HTRA1* położony w *locus* 10q26 koduje proteazę serynową HTRA1, która przerywa szlak sygnału wygenerowanego przez rodzinę czynników wzrostu nowotworów  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) odgrywających rolę w angiogenezie, proliferacji komórek i odkładaniu białek macierzy zewnątrzkomórkowej. Białka rodziny TGF- $\beta$  są negatywnymi regulatorami wzrostu komórek RPE. Rola HTRA1 w AMD może polegać na tym, że po pierwsze hamowanie działania Bmp2 i Bmp4, białek z rodziny TGF- $\beta$ , przez HTRA1 powoduje proliferację komórek RPE, a po drugie HTRA1 przyczynia się do destrukcji macierzy zewnątrzkomórkowej poprzez oddziaływanie na ekspresję metaloproteaz macierzowych, ułatwiając formowanie się zewnętrznych dysków fotoreceptorów. Wystąpienie allelu A w przypadku polimorfizmu -625G>A

(rs11200638) w promotorze genu *HTRA1* podnosi ryzyko zachorowania na wysiękową postać AMD nawet o 45%. Osoby z allelem A wykazywały podwyższony poziom ekspresji mRNA *HTRA1*, a w druzach tych osób stwierdzono podwyższoną zawartość białka *HTRA1*. Zauważono różnice etniczne w przypadku tego polimorfizmu – u rasy białej genotyp AA predysponował do zachorowania na suchą i wysiękową postać AMD w jednakowym stopniu, a w przypadku populacji japońskiej polimorfizm miał znaczenie w wystąpieniu tylko formy wysiękowej AMD (16). Transfekcja genem *HTRA1* o genotypie -625AA linii komórkowych ARPE19 i HeLa3 spowodowała zwiększenie poziomu ekspresji mRNA *HTRA1* w porównaniu z ekspresją po transfekcji *HTRA1* o genotypie -625GG. Sugeruje to, że allel A ma wpływ na poziom transkrypcji genu *HTRA1* poprzez zmianę powinowactwa czynników transkrypcyjnych, takich jak AP2A1 i SRF, do promotora genu *HTRA1* (17).

Gen *PLEKHA1* (*locus* 10q25.3) koduje białko TAPP1 zawierające potencjalny motyw PPBM wiążący 3,4,5-trifosforan fosfadyloinozytolu. Mutacje w tym genie zostały powiązane z ryzykiem zachorowania na AMD, do rozwoju tej choroby szczególnie predysponuje allel G w polimorfizmie 1081G>A w eksonie 2 powodujący zmianę sensu A320T (18).

Gen *LOC387715* (*locus* 10q26.13) został powiązany z predyspozycją do AMD. Nieznana jest jeszcze funkcja produktu białkowego tego genu, ale na podstawie analizy sekwencji określono, że koduje on 107-aminokwasowe (12 kDa) białko, zawierające 9 potencjalnych miejsc fosforylacji, znajdujące się w zewnętrznej błonie mitochondrialnej. Polimorfizm zmiany sensu S69A (270T>G, rs10490924) jest związany z wystąpieniem AMD, a obecność już jednej kopii allelu G podnosi ryzyko zachorowania na AMD (19).

### Geny, których ekspresja może mieć znaczenie w patogenezie AMD

Gen *CCL2* (*locus* 17q11.2-q12) koduje chemokinę Ccl2, czynnik chemotaktyczny i aktywujący monoccyty (MCAF). Ccl2 ściąga monoccyty do miejsca tworzenia się druzów w celu fagocytozy zebranych złogów. Niestety, fagocytoza jest dodatkowym źródłem wolnych rodników tlenowych i azotowych, uszkadzających delikatne fotoreceptory, a silniejszy odczyn zapalny powoduje wysięki i bliznowacenia, stymulując procesy neowaskularyzacyjne, co prowadzi do przejścia AMD w postać wysiękową. Jednak wyniki badań sugerują, że chemokina Ccl2 działa prewencyjnie w przypadku AMD – wyłączenie genu *CCL2* u myszy powoduje szybki rozwój AMD ze wszystkimi jej objawami (20).

Gen *CX3CR1* [chemokina (C-X3-C) receptor 1, *locus* 3pter-p21] koduje śródbłonkowy receptor dla fraktaliny CX3CL1, transbłonowego białka indukującego zarówno adhezję, jak i migrację leukocytów. U chorych na AMD komórki mikrogleju siatkówki wykazują silną ekspresję *CX3CR1* i tworzą skupiska w miejscach, gdzie występują degeneracja siatkówki oraz neowaskularyzacja naczyń (21). Podobnie jak w przypadku genu *CCL2*, wyłączenie *CX3CR1* powoduje rozwój AMD. U myszy *CCL2<sup>+/+</sup>/CX3CR1<sup>+/+</sup>* razem z rozwojem AMD obserwuje się wzrost poziomu składnika dopełniacza C3d w błonie Brucha, RPE i kapilarach naczyń. Ponadto wykrywa się u nich autoprzeciwciała skierowane przeciwko antygenom fotoreceptorów, co sugeruje, że dla patogenezy AMD mogą mieć również

znaczenie reakcje autoimmunologiczne. Polimorfizmy zmiany sensu T280M i V249I genu *CX3CR1* mogą odgrywać rolę w predyspozycji do AMD (22).

Gen *ABCR* (retina-specific ATP-binding cassette transporter, *locus* 1p21) koduje białko ABCR – transbłonową glikoproteinę zewnętrznych segmentów dysków fotoreceptorów. Funkcją białka ABCR jest ATP-zależny transport substancji hydrofobowych i małych peptydów. ABCR odgrywa w płamce ważną rolę, ponieważ posiadając aktywność lipazy, aktywnie przenosi prekursor lipofuscyny, którym jest A2E (N-retinylideno-N-retinyletanoloamina), z jednej warstwy błony komórkowej na drugą. W ten sposób ABCR, eliminując A2E, przeciwdziała odkładaniu się złogów lipofuscyny w RPE i rozwojowi AMD (23).

Do genów, których zaburzona ekspresja może mieć znaczenie w patogenezie AMD, należą również gen *VMD2* (*locus* 11q13) kodujący bestrofinę 1, białko wchodzące w skład kanału dla jonów chlorkowych komórek RPE, *EFEMP1* (*locus* 2p16) kodujący fibulinę 3, *CTRP5* (*locus* 11q23.3) kodujący kolagen ulegający ekspresji w RPE, tworzący część błony Brucha, *CTSD* (*locus* 11p15.5) kodujący katepsynę D niezbędną w trawieniu sfagocytowanej opsyiny z zewnętrznych segmentów fotoreceptorów w RPE, *APOE* (*locus* 19q13.2) kodujący apolipoproteinę E, *RPE65* (*locus* 1p31) kodujący 61-kD białko obficie występujące w RPE i *CCR2* (*locus* 3p21), kodujący receptor dla chemokiny Ccl2. Na rozwój AMD mają też wpływ mutacje w genach kodujących białka antyoksydacyjne. Do genów tych należą: *MnSOD* (*locus* 6q25) kodujący mitochondrialną dysmutazę ponadtlenkową, *MEHE-3* (*locus* 1q42.1) kodujący mikrosomalną hydrolazę epoksydową i gen paraoksonazy *PON* (*locus* 7q21.3).

### Uwagi końcowe

Rozwój AMD jest procesem, na przebieg którego ma wpływ szereg czynników środowiskowych i genetycznych. Poznanie znaczenia polimorfizmów genów predysponujących do AMD pozwoli na lepsze zrozumienie mechanizmu tej złożonej choroby. Wyniki te mogą być bardzo przydatne w określeniu dziedzicznych predyspozycji do AMD, prognozowaniu rozwoju całej choroby, wyjaśnieniu przyczyn występowania tylko postaci suchej – z rozległą atrofią fotoreceptorów u jednych osób, podczas gdy u innych osób z AMD postać sucha przechodzi w postać wysiękową. Są też przypadki, w których od razu rozwija się postać wysiękowa AMD z pominięciem postaci suchej.

Dzięki identyfikacji genów predysponujących do AMD i sterujących jej przebiegiem możliwe będzie ocenienie wpływu czynników środowiskowych, opracowanie schematu wykluczającego czynniki ryzyka, prowadzenie badań przesiewowych, przewidywanie predyspozycji genetycznych, opracowanie skutecznej terapii i, co najważniejsze, wcześniejsze wykrywanie rozwijającej się AMD.

### Piśmiennictwo:

- Magnusson KP, Duan S, Sigurdsson H, Petursson H, Yang Z, Zhao Y, Bernstein PS, Ge J, Jonasson F, Stefansson E, Helgadóttir G, Zabriskie NA, Jonsson T, Björnsson A, Thorlacius T, Jonsson PV, Thorleifsson G, Kong A, Stefansson H, Zhang K, Stefansson K, Gulcher JR: *CFH Y402H confers similar risk of soft drusen and both forms of advanced AMD*. PLoS, 2006, 3, 109-114.

2. Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, Henning AK, SanGiovanni JP, Mane SM, Mayne ST, Bracken MB, Ferris FL, Ott J, Barnstable C, Hoh J: *Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration*. Science 2008, 308, 385-389.
3. Mori K, Gehlbach PL, Kabasawa S, Kawasaki I, Oosaki M, Iizuka H, Katayama S, Awata T, Yoneya S: *Coding and noncoding variants in the CFH gene and cigarette smoking influence the risk of age-related macular degeneration in a Japanese population*. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2007, 48, 5315-5319.
4. Chen LJ, Liu DT, Tam PO, Chan WM, Liu K, Chong KK, Lam DS, Pang CP: *Association of complement factor H polymorphisms with exudative age-related macular degeneration*. Mol Vis. 2006, 12, 1536-1542.
5. Maller J, George S, Purcell S, Fagerness J, Altshuler D, Daly MJ, Seddon JM: *Common variation in three genes, including a non-coding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration*. Nature Genet 2006, 38, 1055-1059.
6. Gold B, Merriam JE, Zernant J, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs K, Cramer K, Neel J, Bergeron J, Barile GR, Smith RT, Hageman GS, Dean M, Allikmets R: *Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration*. Nature Genet 2006, 38, 458-462.
7. Hughes AE, Orr N, Esfandiary H, Diaz-Torres M, Goodship T, Chakravarthy U: *A common CFH haplotype, with deletion of CFHR1 and CFHR3, is associated with lower risk of age-related macular degeneration*. Nature Genet 2006, 38, 1173-1177.
8. Yates JRW, Sepp T, Matharu BK, Khan JC, Thurlby DA, Shahid H, Clayton DG, Hayward C, Morgan J, Wright AF, Armbricht AM, Dhillon B, Deary IJ, Redmond E, Bird AC, Moore AT: *Complement C3 variant and the risk of age-related macular degeneration*. New Eng J Med 2007, 357, 553-561.
9. Kliffen M, Sharma HS, Mooy HS, Kerkvliet CM, de Jong PTVM: *Increased expression of angiogenic growth factors in age-related maculopathy*. Br J Ophthalmol 1997, 81, 154-162.
10. Vannay A, Dunai G, Banyasz I, Szabo M, Vamos R, Treszl A, Hajdu J, Tulassay T, Vasarhely B: *Association of genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and risk for proliferative retinopathy of prematurity*. Paediatr Res 2005, 57, 396-398.
11. Wada Y, Abe T, Itabashi T, Sato H, Kawamura M, Tamai M: *Autosomal Dominant Macular Degeneration, Associated With 208delG Mutation in the FSCN2 Gene*. Arch Ophthalmol 2003, 121, 1613-1620.
12. Tuo J, Ning B, Bojanowski CM, Lin Z-N, Ross RJ, Reed GF, Shen D, Jiao X, Min Zhou, Chew EY, Kadlubar FF, Chan CC: *Synergic effect of polymorphisms in ERCC6 5' flanking region and complement factor H on age-related macular degeneration predisposition*. PNAS, 2006, 103, 9256-9261.
13. Schultz DW, Klein ML, Humpert AJ, Luzier CW, Persun V, Schain M, Mahan A, Runckel C, Cassera M, Vittal V, Doyle TM, Martin TM, Weleber RG, Francis PJ, Acott TS: *Analysis of the ARMD1 locus: evidence that a mutation in HEMICENTIN-1 is associated with age-related macular degeneration in a large family*. Hum Mol Genet 2003, 12, 3315-3323.
14. Thompson CL, Klein BE, Klein R, Xu Z, Capriotti J, Joshi T, Leontiev D, Lee KE, Elston RC, Iyengar SK: *Complement factor H and hemicentin-1 in age-related macular degeneration and renal phenotypes*. Human Molecular Genetics 2007, 16, 2135-2148.
15. Bojanowski CM, Shen D, Chew EY, Ning B, Csaky KG, Green WR, Chan CC, Tuo J: *An Apolipoprotein E variant may protect against age-related macular degeneration through cytokine regulation*. Environ Mol Mutagen 2006, 47, 594-602.
16. Lu F, Hu J, Zhao P, Lin Y, Yang Y, Liu X, Fan Y, Chen B, Liao S, Du Q, Lei C, Cameron DJ, Zhang K, Yang Z: *HTRA1 variant increases risk to neovascular age-related macular degeneration in Chinese population*. Vision Res. 2007, 47, 3120-3123.
17. Dewan A, Liu M, Hartman S, Zhang SS, Liu DT, Zhao C, Tam PO, Chan WM, Lam DS, Snyder M, Barnstable C, Pang CP, Hoh J: *HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration*. Science 2006, 314, 989-992.
18. Conley YP, Thalamuthu A, Jakobsdottir J, Weeks DE, Mah T, Ferrell RE, Gorin MB: *Candidate gene analysis suggests a role for fatty acid biosynthesis and regulation of the complement system in the etiology of age-related maculopathy*. Hum Mol Genet 2005, 15, 1991-2002.
19. Kanda A, Chen W, Othman M, Branham KE, Brooks M, Khanna R, He S, Lyons R, Abecasis GR, Swaroop A: *A variant of mitochondrial protein LOC387715/ARMS2, not HTRA1, is strongly associated with age-related macular degeneration*. Proc Natl Acad Sci USA 2007, 104, 16725-16726.
20. Ross RJ, Zhou M, Shen D, Fariss RN, Ding X, Bojanowski CM, Tuo J, Chan CC: *Immunological protein expression profile in Ccl2/Cx3cr1 deficient mice with lesions similar to age-related macular degeneration*. Exp Eye Res. 2008, 86, 675-683.
21. Combadiere C, Feumi C, Raoul W, Keller N, Rodero M, Pezard A, Lavalette S, Houssier M, Jonet L, Picard E, Debre P, Sirinyan M, Deterre P, Ferroukhi T, Cohen SY, Chauvaud D, Jeanny JC, Chemtob S, Behar-Cohen F, Sennlaub F: *CX3CR1-dependent subretinal microglia cell accumulation is associated with cardinal features of age-related macular degeneration*. J Clin Invest 2007, 117, 2920-2928.
22. Combadiere C, Feumi C, Raoul W, Keller N, Rodero M, Pezard A, Lavalette S, Houssier M, Jonet L, Picard E, Debre P, Sirinyan M, Deterre P, Ferroukhi T, Cohen SY, Chauvaud D, Jeanny JC, Chemtob S, Behar-Cohen F, Sennlaub F: *CX3CR1-dependent subretinal microglia cell accumulation is associated with cardinal features of age-related macular degeneration*. J Clin Invest 2007, 117, 2920-2928.
23. Klaver CC, Allikmets R: *Genetics of macular dystrophies and implications for age-related macular degeneration*. Dev Ophthalmol 2003, 37, 155-169.

Praca wpłynęła do Redakcji 16.05.2008 r. (1048)  
Zakwalifikowano do druku 20.04.2009 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

prof. dr hab. Janusz Błasiak  
Uniwersytet Łódzki  
Katedra Genetyki Molekularnej  
ul. Banacha 12/16  
90-237 Łódź  
januszb@biol.uni.lodz.pl