

(166)

# Znaczenie metabolizmu tlenowego siatkówki w patogenezie zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem

## The role of retinal oxygen metabolism in origin of age-related macular degeneration (AMD)

Michał Nowak, Witold Gnitecki, Piotr Jurowski

Z Kliniki Okulistyki i Rehabilitacji Wzrokowej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego nr 2 im. WAM Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Roman Goś

**Summary:** Age-related macular degeneration (AMD) is the leading cause of visual loss in individuals over 60 years old, in developed countries. This article provides the latest information about the role of retinal oxygen metabolism in origin of that disease. It is considered that reactive oxygen species (ROS), including free radicals are responsible for apoptotic cell death and developing of pathological changes in AMD. Exposure to visible light induces dysfunction of retinal pigment epithelial cells, accumulation of lipoprotein aggregates in Bruch's membrane, formation of drusen, and final results are damage to photosensitive retina, which leads to AMD. There are many of antioxidant systems in retina, which protect tissue from ROS. In this review we focus on their actions in terms of mechanisms of preventing oxidative damage and their potential role in therapy of AMD. There is strong evidence suggesting the supporting role of the nutritional antioxidant supplementation and protection from exposure to the visible light in the prevention and treatment of age-related macular degeneration.

**Słowa kluczowe:** zwyrodnienie plamki związane z wiekiem, reaktywne formy tlenu, antyoksydanty.

**Key words:** age-related macular degeneration, reactive oxygen species, antioxidants.

W krajach rozwiniętych starcze zwyrodnienie plamki (ang. age-related macular degeneration – AMD) jest istotną przyczyną upośledzenia widzenia u osób w wieku powyżej 60 lat. Wyniki badań epidemiologicznych potwierdzają występowanie AMD u 66% dziewięćdziesięciolatków, w tym u 25% z nich prowadzi ono do znacznego pogorszenia widzenia (22). Ze względu na coraz powszechniejsze występowanie AMD, szczególnie wśród społeczeństw krajów rozwiniętych, można tę jednostkę chorobową zaliczyć do schorzeń cywilizacyjnych. Jak dotąd poznano wiele czynników ryzyka rozwoju starczego zwyrodnienia plamki, z których najważniejsze to wiek (powyżej 60. roku życia), palenie tytoniu, płeć (kobiety powyżej 75. roku życia chorują częściej) oraz obniżony poziom naturalnych antyoksydantów. Wiadomo, że AMD nie jest izolowaną jednostką, współistnieje z niektórymi chorobami ogólnymi, między innymi z miażdżycą naczyń krwionośnych, nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą. Za ważny czynnik wpływający na rozwój AMD uważane jest działanie promieniowania słonecznego (11,12). Uważa się, że za powstawanie zmian patologicznych w przebiegu starczego zwyrodnienia plamki, oprócz potencjalnych predyspozycji genetycznych, mogą być odpowiedzialne reaktywne formy tlenu (ang. reactive oxygen species – ROS), w tym wolne rodniki.

Siatkówka oka stanowi szczególne środowisko, w którym ciśnienie cząsteczkowe tlenu (70 mmHg) jest wyższe niż w pozostałych częściach organizmu. To wyjątkowe zapotrzebowanie na tlen związane jest z wysokim poziomem jej metabolizmu, szczególnie segmentów wewnętrznych fotoreceptorów, które zawierają wyraźnie większą liczbę mitochondriów niż komórki innych tkanek. Na dodatek błony komórkowe fotoreceptorów bogate są w nienasycone kwasy tłuszczowe, podatne na procesy oksydacyjne (24). Z drugiej strony wysokiemu metabolizmowi siatkówki towarzyszy również stres oksydacyjny, jako rezultat komórkowej produkcji reaktywnych form tlenu (ROS), których nadmierna ilość może brać udział w etiopatogenezie niektórych schorzeń siatkówki.

Wolne rodniki są to cząsteczki zawierające jeden lub więcej niesparowanych elektronów. W komórce głównym prekursorem rodników jest cząsteczka tlenu (1). Reaktywne formy tlenu (ROS) to zarówno wolne rodniki, jak i inne toksyczne formy tlenu charakteryzujące się silnymi właściwościami utleniającymi. Najczęściej spotykanymi ROS w organizmie człowieka są: anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^-$ ), rodnik wodorotlenowy (OH), tlen singletowy ( $^1O_2$ ), nadtleńek wodoru ( $H_2O_2$ ), kwas podchloryny (HClO), rodniki organiczne (ROO, RO, R). W stanach chorobowych powstają one pod wpływem czynników zewnętrznych, takich jak promieniowanie ultrafioletowe

i jonizujące, ultradźwięki, oraz niektórych substancji chemicznych czy leków (14). W komórkach siatkówki najważniejszym źródłem ROS jest mitochondrialny łańcuch oddechowy, w którym dostarczona z krwią cząsteczka tlenu ( $O_2$ ) ulega czteroelektronowej redukcji, czego wynikiem jest powstanie dwóch cząsteczek wody. Uwolniona w tym procesie energia wykorzystywana jest do syntezy ATP. Wolne rodniki (głównie anionorodnik ponadtlenkowy) powstają jako produkty uboczne redukcji cząsteczki tlenu (2,3). Innym źródłem ROS w siatkówce są procesy autooksydacji lipofuscyny, aktywacji protoporfirynowych fotouczulaczy (odpowiedzialnych za powstawanie tlenu singletowego) oraz aktywacji syntazy prostaglandyny G/H generującej NADP/NADPH, od której zależy produkcja anionorodnika ponadtlenkowego. Generacja ROS w siatkówce zachodzi również w trakcie procesów autooksydacji catecholamin, w stanach niedotlenienia, niedokrwienia, procesie zapalenia, fagocytozy segmentów zewnętrznych czopków i pręcików przez komórki nabłonka barwnikowego siatkówki oraz fagocytozy dokonywanej przez makrofagi, monocyty i neutrofile (4,10,17,24).

W warunkach fizjologicznych istnieje równowaga pomiędzy powstawaniem aktywnych form tlenu a enzymatycznym i nieenzymatycznym układem antyoksydacyjnym. Naruszenie tej równowagi w przypadku nadmiernej indukcji wolnych rodników bądź mało wydolnych mechanizmów unieszkodliwiających może prowadzić do nadmiernej peroksydacji lipidów wchodzących w skład błon komórkowych. Peroksydacji ulegają głównie reszty wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Peroksydacja jest procesem lawinowym, co oznacza, że powstałe nadtenki organiczne są zdolne do utleniania kolejnych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Reakcje peroksydacji lipidów błon komórkowych inicjują również syntezę prostanoïdów (prostaglandyn, tromboksanów i leukotrienów) z kwasu arachidonowego, katalizowaną przez lipooksygenazy i syntazę prostaglandyn G/H. Efektem tych przemian jest m. in. powstanie kilku- i kilkunastowęglowych związków reagujących z kwasem tiobarbiturowym (tzw. TBRAS – thiobarbituric acid reacting substances), spośród których najczęściej spotykany jest pozostający w równowadze z tromboksanem  $A_2$  dwualdehyd malonowy (MDA). Uważa się, że oznaczenie stężenia TBRAS w zawiesinach komórek, homogenatach itp. jest wskaźnikiem stopnia peroksydacji błon komórkowych (2,6).

Do przeciwdziałania destruktywnej, nadmiernej aktywności reaktywnych form tlenu służy własny enzymatyczny i nieenzymatyczny układ antyoksydacyjny siatkówki. Dotychczasowe badania doświadczalne wykazały, że w nabłonku barwnikowym siatkówki czynności obronne przed toksycznym działaniem częściowo zredukowanych form tlenu zapewniają następujące enzymy: dysmutaza ponadtlenkowa, peroksydaza glutationowa selenozależna i selenoniezależna oraz katalaza (2,15,24). Głównym zadaniem dysmutazy ponadtlenkowej, której szczególnie dużą aktywność stwierdza się w mitochondriach, jest przemiana rodnika ponadtlenkowego i jonów wodoru do tlenu cząsteczkowego i nadtenku wodoru. Z kolei katalaza, której dużą aktywność stwierdza się w peroksydomach, zapobiega gromadzeniu się nadtenku wodoru w komórkach, rozkładając ten związek do wody i tlenu cząsteczkowego. Peroksydaza glutationowa przekształca nadtenki organiczne do związków nietoksycznych. Istnieją dwa typy tego enzymu – peroksydaza glutationowa selenozależna i selenoniezależna, występujące zarówno w cytoplazmie, jak i w mitochondriach komórek. Dawcą wodoru dla obu tych enzymów jest glutation. Aktywność syntetazy i reduktazy glutationu warunkuje prawidłowe funkcjonowanie

peroksydaz. Oba enzymy występują w cytoplazmie i razem z katalazą rozkładają nadtenek wodoru do wody i tlenu. W skład enzymatycznego układu antyoksydacyjnego wchodzi elementy nieenzymatyczne, jony metali przejściowych o zmiennej wartościowości. Dysmutaza ponadtlenkowa zawiera m. in. atomy miedzi i cynku (1,2,15). Podkreśla się, że niedobory selenu, cynku bądź miedzi w ustroju mogą powodować wzrost stężenia nadtenku wodoru i rodnika ponadtlenkowego oraz zwiększoną aktywność rodnika wodorotlenowego (OH), który jest odpowiedzialny za niekontrolowany przebieg reakcji wytwarzających wolne rodniki. Cynk jest jednym z ważniejszych pierwiastków biorących udział w reakcjach antyoksydacyjnych. Udowodniono w warunkach *in vitro*, że niska zawartość cynku w komórkach nabłonka barwnikowego upośledza ich enzymatyczną obronę antyoksydacyjną (21). Wymienione pierwiastki są śladowymi substancjami odżywczymi, dostarczany wyłącznie ze środowiska zewnętrznego, co sugeruje konieczność odpowiedniej ich podaży w diecie w przypadkach leczenia i/ lub profilaktyki AMD.

Do grupy nieenzymatycznych przeciwutleniaczy należą również m. in. tokoferolochinony, glutation, kwas askorbinowy i betakaroten. Najsilniejszym, fizjologicznym antyoksydantem działającym w błonach komórkowych oraz lipoproteinach osocza jest tokoferol (witamina E). Kwas askorbinowy (witamina C) działa jako najsilniejszy antyutleniacz w środowisku wodnym (2,20). Niektóre dane potwierdzają obniżenie zawartości antyoksydantów w surowicy krwi, m. in. zredukowanego glutationu – GSH – po 60. roku życia. Zatem wzrost stężenia GSH u ludzi starszych może mieć potencjalnie istotne znaczenie w ochronie antyoksydacyjnej siatkówki (19). Udowodniono również w badaniach doświadczalnych na szczurach, poddanych przez 4 miesiące niedoborowi witamin A i E w diecie, znamienne wyższe stężenie TBRAS w homogenatach nabłonka barwnikowego i komórkach fotoreceptorowych. Stąd też podkreśla się, że niedobór tych witamin może być czynnikiem ryzyka rozwoju AMD (8). Betakaroten (witamina A) jest jednym z najefektywniej działających antyoksydantów w warunkach niskiego ciśnienia cząsteczkowego tlenu, np. w stanach hipoksji i niedokrwienia (13).

W obrębie plamki siatkówki funkcję antyoksydacyjną spełniają również karotenoidy: luteina i zeaksantyna, a ich funkcja polega m. in. na absorpcji promieniowania UV oraz ochronie przed falami krótkimi widma światła widzialnego (400-480 nm). Ponadto biorą udział w „wymiataniu” tlenu singletowego, hamowaniu procesów fotouczulania i autooksydacji lipidów. Właściwości antyoksydacyjne ma również melanina zawarta w komórkach warstwy barwnikowej siatkówki i w tęczówce (16).

Powstawanie starczego zwyrodnienia plamki może być również związane z nadmierną ekspozycją na światło widzialne i UV. Sugeruje się, że gromadząca się lipofuscyna, która powstaje w procesie fagocytozy zewnętrznych segmentów fotoreceptorów jako produkt niepełnej degradacji białek i lipidów, poddana działaniu światła o długości fali 450 nm (niebieskiego), wykazuje właściwości autooksydacyjne związane z generowaniem tlenu singletowego i anionorodnika ponadtlenkowego. Objętość lipofuscyny u ludzi starszych może zajmować nawet do 20% objętości komórki nabłonka barwnikowego. Wzrastająca z wiekiem ilość wewnątrzkomórkowej lipofuscyny i związane z tym uwalnianie wolnych rodników prowadzą do uszkodzenia błony podstawnej nabłonka barwnikowego i błony Brucha (17,18,24). Z kolei w wyniku utleniania lipidów w nabłonku barwnikowym powstają nieaktywne chemicznie cząsteczki polime-

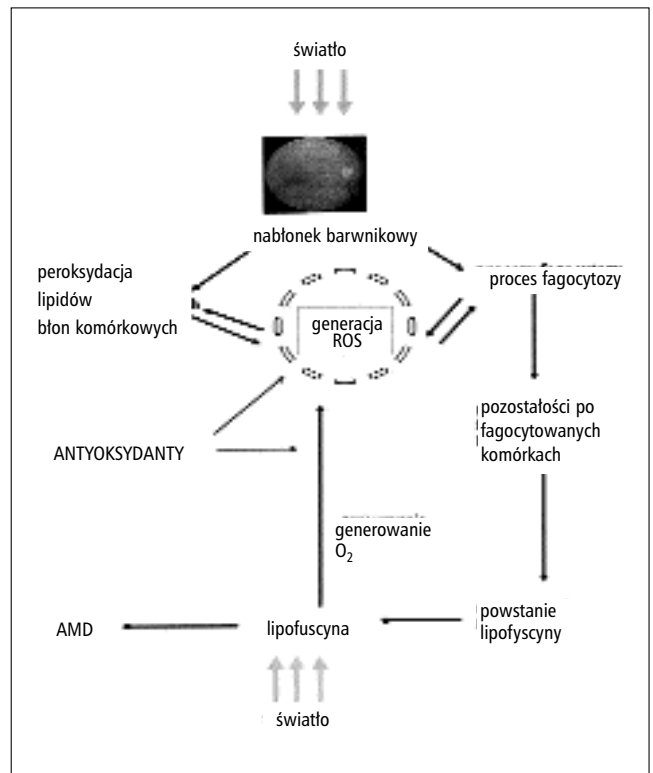
rów, których nadmierne gromadzenie prowadzi do powstania druz. Ponadto powstające druzy prowadzą do zaniku komórek nabłonka barwnikowego i obumierania fotoreceptorów siatkówki (20).

Poszczególne pasma światła widzialnego wykazują różnicowane działanie na siatkówkę. Zbyt długa, jednorazowa ekspozycja na światło słoneczne powoduje efekt termiczny. Oparzenie siatkówki prowadzi do uszkodzenia błon komórkowych, uwolnienia jonów żelaza, które mogą katalizować reakcje powstawania ROS. Udowodniono, że energia niezbędna do wywołania zauważalnych uszkodzeń siatkówki zmienia się w zależności od długości fal światła. W przypadku zmniejszenia długości fali światła poniżej 460 nm ilość energii uszkadzającej siatkówkę maleje kilkusetkrotnie. Może to sugerować istnienie w komórkach siatkówki, oprócz wspomnianej już lipofuscyny, czynnika wyzwalającego procesy oksydacyjne pod wpływem fal krótkich światła widzialnego. Badania *in vitro* wskazują, że czynnikiem tym może być syntaza prostaglandynowa H/S (PGHS), aktywowana w fotoreceptorach i homogenatach siatkówki ekspozowanych na światło o długości fali 350 nm. Enzym PGHS aktywuje w ten sposób lawinowy proces odłączania kwasu arachidonowego od fosfolipidów błon komórkowych i przekształcania go w prostaglandyny (10). Bardzo krótkie fale nie przenikają dostatecznie w głąb oczu.

Wpływ światła widzialnego na powstawanie i rozwój starszego zwyrodnienia plamki potwierdzają także wyniki niektórych badań epidemiologicznych, w których oceniano wieloletni wpływ światła fioletowego (400-450 nm), niebieskiego (400-500 nm), widzialnego (400-700 nm), UV-A (320 nm), UV-B (290-320 nm) na zmiany w dnie oka. Wyniki tych badań sugerują istotną zależność pomiędzy ekspozycją na światło niebieskie a występowaniem zarówno suchej, jak i wilgotnej postaci AMD (23). Inna hipoteza dotycząca powstawania starszego zwyrodnienia plamki związana jest ze zjawiskiem fotoczułości. Do zainicjowania tego procesu niezbędna jest jednocześnie obecność tlenu oraz fotosensibilizatora (barwnika), absorbującego światło o odpowiedniej długości. Potencjalnymi biologicznymi fotouczulaczami są porfiryny i bakteriochloryny. Wiadomo, że głównym czynnikiem cytotoksycznym generowanym w reakcji fotodynamicznej jest tlen singletowy, a zatem niektóre prekursorzy hemoglobiny obecne w erytrocytach (protoporfiryna), znajdując się w choriokapilarach w naczyniówce, mogą ulegać fotosensibilizacji pod wpływem światła, co prowadzi do produkcji ROS. Potwierdzeniem tej hipotezy są wyniki obserwacji przeprowadzonych na myszach poddanych ekspozycji na niebieską część pasma światła widzialnego (380-430 nm), u których badania histopatologiczne wykazały pogrubienie błony Brucha i występowanie włóknisto-ziarnistych depozytów o różnej wielkości i kształcie (24) (ryc. 1).

Uważa się również, że reakcje immunologiczne nasilają procesy patologiczne zapoczątkowane przez reaktywne formy tlenu, co potwierdza występowanie w surowicy przeciwciał przeciwko białkom zewnętrznej części czopków (9,16).

Podsumowując niniejsze opracowanie, należy stwierdzić, że w siatkówce toczą się złożone procesy oksydacyjne zapewniające odpowiedni, wysoki poziom metabolizmu tlenowego. Nasilająca się z wiekiem niewydolność istotnych enzymów antyutleniających, wchodzących w skład układu antyoksydacyjnego, spowolnienie procesów metabolicznych, gromadzenie się lipofuscyny oraz powstające pod wpływem światła wolne rodniki należą do najistotniejszych czynników w patogenezie AMD. Biorąc pod uwagę obecny stan wiedzy, należy stwierdzić, że w zasadzie nie mamy wpływu



Ryc. 1. Patogeneza zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem.  
Fig. 1. The pathogenesis of age-related macular degeneration.

na wydolność układu enzymatycznego. Jedyną możliwością oddziaływania na niego jest uzupełnienie mikroelementów wchodzących w jego skład. W profilaktyce AMD główny nacisk należy położyć na drogę nieenzymatyczną przez odpowiednią podaż w diecie niezbędnych witamin oraz ochronę przed nadmierną ekspozycją na promieniowanie świetlne (5,7,15).

#### PIŚMIENNICTWO:

1. Angielski S., Rogulski J.: *Biochemia kliniczna: podręcznik dla studentów medycyny*. Warszawa, PZWL, 1991, 67-74.
2. Bartosz G.: *Druga twarz tlenu*. Warszawa, PWN, 1995, 80-112.
3. Beatty S., Koh H., Phil M., Henson D., Boulton M.: *The role of oxidative stress in pathogenesis of age-related macular degeneration*. *Surv. Ophthalmol.*, 2000; 45: 115-134.
4. Brunk U. T., Terman A.: *Lipofuscin: mechanism of age-related accumulation and influence on cell function*. *Free Radic. Biol. Med.*, 2002; 9: 611-619.
5. Bresler N. M., Bresler S. B., Congdon N. G., Ferris F. L., Friedman D. S., Klein R., Lindblad A. S., Milton R. C., Seddon J. M.: *Potential public health impact Age-Related Disease Eye Study results*. AREDS, report no. 11, *Arch. Ophthalmol.*, 2003; 11: 1634-1636.
6. Cai J., Nelson K. C., Wu M., Sternberg P, Jones D. P.: *Oxidative damage and protection of the RPE*. *Prog. Retin. Eye Res.*, 2000; 19: 205-221.
7. Flood V., Smith W., Wang J., Manzi F., Webb K.: *Dietary antioxidant intake and incidence of early age-related maculopathy*. *The Blue Mountains Eye Study*, *Ophthalmology*, 2002; 109: 2272-2278.

8. Goss-Sampson M. A., Kriss T., Muller D. P.: *Retinal abnormalities in experimental vitamin E deficiency*. Free Radic. Biol. Med., 1998; 25: 457-462.
9. Gume D. H., Tso M. O. M., Edward D. P., Ripps H.: *Antiretinal antibodies in serum of patients with age-related macular degeneration*. Ophthalmology, 1991; 98: 602-607.
10. Hanna N., Peri K. G., Abran D., Hardy P., Doke A., Lachapelle P., Roy M., Orquin J., Varma D. A., Chemtob S.: *Light induces peroxydation in retina by activating prostaglandin G/H synthase*. Free Radic. Biol. Med., 1997; 23: 885-897.
11. Hawkins B. S., Bird A., Klein R., West S. K.: *Epidemiology of age-related macular degeneration*. Mol. Vis., 1999; 5: 26.
12. Hyman L., Neborsky R.: *Risk factors for age-related macular degeneration: an update*. Curr. Opin. Ophthalmol., 2002; 13: 171-175.
13. Johnson E. J.: *The role of carotenoids in human health*. Nutr. Clin. Care, 2002; 5: 56-65.
14. Kantorski J.: *Wpływ niektórych czynników egzo- i endogenych na generowanie wolnych rodników przez ludzkie granulocyty obojętne w hodowlach in vitro*. Praca doktorska, Łódź, WAM, 1992, 5-12.
15. Kałużny J.: *Antyutleniające w profilaktyce chorób oczu*. Klinika Oczna, 1996; 98: 141-143.
16. Kałużny J. J., Jurgowiak M.: *Udział reaktywnych form tlenu w patogenezie wybranych chorób oczu*. Klinika Oczna, 1996; 98: 145-149.
17. Różanowska M., Korytowski W., Różanowski B., Skumatz C., Boulton M. E., Burke J. M., Sarna T.: *Photoreactivity of aged human RPE melanosomes: a comparison with lipofuscin*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 2002; 43: 2088-2096.
18. Różanowska M., Wessels J., Boulton M., Burke J. M., Rodgers M., Truscott T. G., Sarna T.: *Blue light-induced singlet oxygen generation by retinal lipofuscin in non-polar media*. Free Radic. Biol. Med., 1998; 24: 1107-1112.
19. Samiec P. S., Drews-Botsch C., Flagg E. W., Kurtz J. C., Sternberg P., Reed R. L., Jonem D. P.: *Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration and diabetes*. Free Radic. Biol. Med., 1998; 24: 699-704.
20. Schappach A.: *Monografia naukowa na temat zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem oraz roli śladowych substancji odżywczych*. Dział Medyczny, Dr. Gerard Mann Chem – pharm, 2002/2003, 4-11.
21. Tate D. J., Miceli M. V., Newsome D.: *Zinc protects against oxidative damage in cultured human retinal pigment epithelial cells*. Free Radic. Biol. Med., 1999; 26: 704-713.
22. Taylor H. R., Tikellis G., Robman L. D., McCarty C. A., McNeil J. J.: *Vitamin E supplementation and macular degeneration: randomized controlled trial*. BMJ, 2002; 325: 11, 301-308.
23. Taylor H. R., West S., Munoz B., Rosenthal F. S., Bressler S. B., Bressler N. M.: *The long-term effects of visible light on the eye*. Arch. Ophthalmol., 1993; 111: 297-298.
24. Winkler B. S., Boulton M. E., Gottsch J. D., Sternberg P.: *Oxidative damage and age-related macular degeneration*. Mol. Vis., 1999; 5: 265-270.

Praca wpłynęła do Redakcji 6.06.2004 r. (604).

Zakwalifikowano do druku 30.09.2005 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
lek. med. Michał Nowak  
Klinika Okulistyki i Rehabilitacji Wzrokowej  
Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 2  
ul. Żeromskiego 113  
90-549 Łódź