Lek. Agnieszka Skowyra

„Rola układu dopełniacza w patogenezie zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem”

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (ang. Age-related Macular Degeneration, w skrócie AMD) jest chorobą, w której dochodzi do utraty centralnego widzenia wskutek uszkodzenia obszaru siatkówki odpowiedzialnego za precyzyjne widzenie, czyli plamki. W krajach rozwiniętych AMD stanowi główną przyczynę trwałego uszkodzenia widzenia i ślepoty wśród osób starszych.

AMD rozwija się we włośniczkach naczyniówki, Błonie Brucha oraz w zewnętrznych warstwach siatkówki – nabłonku barwnikowym i fotoreceptorach. W początkowym stadium może nie dawać żadnych objawów lub powoduje niewielkie zaburzenia widzenia pod postacią krzywienia obrazu (metamorfopsje), obniżenia kontrastu. Objawy choroby mogą jednak z czasem ulec nasileniu, doprowadzając w schyłkowej formie do całkowitej utraty centralnego widzenia.

Wyróżniamy dwa typy choroby: postać suchą i wysiękową. Zarówno początkowe zmiany zwyrodnieniowe siatkówki jak również zaawansowane stadium – zanik geograficzny, należą do „postaci suchej” zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem. Występuje ona znacznie częściej, dotyczy 80-90% wszystkich przypadków. Na postać wysiękową zapada zaś 10-20% chorych. Obie formy AMD mogą współistnieć u jednego pacjenta. Różny jest także czas rozwoju choroby, może się on wahać od kilku tygodni do kilku lat. Zwykle postać suchą charakteryzuje łagodniejszy i wolniejszy przebieg. Niestety w dalszym ciągu nie ma skutecznego sposobu jej leczenia. Postać wysiękowa choć rzadziej występująca jest groźniejsza ze względu na bardziej gwałtowny rozwój i krótszy czas, w jakim może doprowadzić do ślepoty. Aktualne strategie lecznicze skoncentrowane są głównie na zwalczaniu, charakterystycznej dla tego rodzaju choroby, neowaskularyzacji naczyniówkowej (ang. choroidal neovascularization, cnv). W tym celu stosowane są iniekcje doszklistkowe leków z grupy anty-VEGF (terapia antyangiogenna, ang. vascular endothelial growth factor, VEGF).

Etiologia zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem jest wieloczynnikowa i nie do końca jeszcze znana. Obecnie uważa się, że najważniejszym czynnikiem ryzyka wystąpienia AMD jest wiek. Choroba typowo pojawia się po 55 r.ż. i wraz z wiekiem dochodzi do wzrostu zachorowalności na nią. Ważnym modyfikowalnym czynnikiem ryzyka jest zaś palenie tytoniu.

Patogeneza choroby w dalszym ciągu nie jest w pełni wyjaśniona. Wraz z postępem wiedzy na pierwszy plan wysunęły się genetyczne, immunologiczne i zapalne czynniki ryzyka. Aktualne badania naukowe ukazują możliwy związek pomiędzy rozwojem AMD a procesami zapalnymi powiązanymi z aktywacją układu dopełniacza oraz stresem oksydacyjnym i reakcjami fotochemicznymi na poziomie siatkówki.

 Układ dopełniacza jest zbiorem kilkudziesięciu białek i powiązanych z nimi receptorów, należącym do odpowiedzi immunologicznej nieswoistej. Aktywacja tego układu zachodzi w sposób kaskadowy, czyli każdy kolejny składnik aktywuje następny. Wyróżniamy trzy drogi uruchamiania układu dopełniacza: klasyczną, lektynową i alternatywną. Wszystkie drogi aktywacji powodują uwolnienie mediatorów reakcji zapalnej. Mogą też prowadzić do powstania kompleksów atakujących błonę (ang. membrane attack complex, MAC), uszkadzających komórki, doprowadzając do śmierci litycznej komórki.

Dzięki technikom immunohistochemicznym wiadomo, że już druzy, czyli żółtawe złogi znajdujące się między błoną Brucha a warstwą komórek nabłonka barwnikowego, będące początkowym stadium choroby, zawierają między innymi fragmenty układu dopełniacza. Fragmenty te są również możliwe do zbadania w surowicy krwi pacjentów ze zwyrodnieniem plamki związanym z wiekiem.

Układ dopełniacza może być aktywowany na poziomie siatkówki przez reakcje fotochemiczne w niej zachodzące oraz procesy stresu oksydacyjnego. Sprzyja temu fakt, że siatkówka należy do tkanek o największym metabolizmie tlenowym w organizmie, a także ma większy niż inne tkanki kontakt ze światłem. Opisywany w literaturze barwnik lipofuscyna, jest głównym fotouczulaczem na poziomie nabłonka barwnikowego siatkówki. Ponadto fotouczulaczami, mogącymi aktywować układ dopełniacza, co zostało potwierdzone w badaniach in vitro, są endogenna protoporfiryna IX oraz substancje egzogenne stosowane przez pacjentów, w tym niektóre leki.

Celem pracy była analiza roli układu dopełniacza w patogenezie zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem oraz ocena związanych z aktywacją endogennych oraz egzogennych czynników ryzyka tej choroby. Ocena obejmowała występowanie różnych wariantów genowych mutacji genu dla czynnika H dopełniacza (Y402H) oraz wpływ czynników jak i substancji egzogennych na występowanie AMD. W celu realizacji projektu do badania zakwalifikowano łącznie 133 pacjentów, 90 ze zwyrodnieniem plamki związanym z wiekiem postacią suchą i wysiękową oraz 43 pacjentów bez AMD stanowiących grupę kontrolną, diagnozowanych i leczonych w Klinice Okulistyki oraz jej Poradniach Przyklinicznych, kierowanej przez Panią prof. dr hab. n. med. Iwonę Grabską-Liberek, Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego szpitala im. prof. W. Orłowskiego w Warszawie. Z badania wykluczono pacjentów z jaskrą, zapaleniami błony naczyniowej, chorobami rogówki, cukrzycą, ogólnymi chorobami zapalnymi i autoimmunologicznymi, czyli stanami, które mogą wpływać na aktywację układu dopełniacza i tym samym utrudnić interpretację uzyskanych wyników.

Pacjentów podzielono na trzy główne grupy: z suchą postacią AMD, z wysiękową postacią choroby oraz grupę kontrolną, którą stanowili pacjenci bez zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem. Ponadto, wszystkich pacjentów podzielono według stopnia zaawansowania choroby bazując na czterostopniowej skali oceny zaawansowania choroby – AREDS (ang. Age-Related Eye Disease Study).

U zakwalifikowanych do badania pacjentów przeprowadzono: badanie ankietowe, pełne badanie okulistyczne oraz oznaczono w surowicy krwi fragmenty aktywacji układu dopełniacza: iC3b, Bb, Sc5b-9. Przeprowadzono także genotypowanie polimorfizmu Y402H w genie dla czynnika H dopełniacza i określono warianty genowe występujące w badanej populacji.

Zaobserwowano istotne statystycznie różnice w rozkładzie występowania wariantów genowych Y402H pomiędzy badanymi grupami. Najczęściej obserwowanym wariantem w badanej grupie pacjentów był wariant Y. Wśród czynników ryzyka zaobserwowano, że wariant mutacji C genu dla czynnika H dopełniacza (Y402H) częściej występuje u pacjentów ze zwyrodnieniem plamki związanym z wiekiem, dotyczy to zarówno suchej jak i wysiękowej postaci AMD, zaś wariant genowy T wydaje się być czynnikiem zmniejszającym ryzyko zachorowania na zwyrodnienie plamki związane z wiekiem. Stwierdzono również, że u pacjentów z wariantem genowym C palenie papierosów oraz zwiększona ekspozycja na światło słoneczne stanowią istotne statystycznie czynniki ryzyka zachorowania na AMD. Zaobserwowano także związek pomiędzy występowaniem wariantów genowych T oraz Y a noszeniem okularów z filtrem. Wymienione tu czynniki egzogenne wiążą się z procesami regulacji oraz fotoaktywacji układu dopełniacza, a razem z czynnikiem genetycznym mogą wpływać na ryzyko zachorowania na zwyrodnienie plamki związane z wiekiem.

Przeprowadzona analiza stężeń produktów aktywacji układu dopełniacza wykazała istotne statystycznie różnice pomiędzy badanymi grupami pacjentów. Aktywację układu dopełniacza pod postacią podwyższonych stężeń fragmentów iC3b, Bb, Sc5b-9 w surowicy krwi zaobserwowano u chorych z postacią wysiękową oraz w podziale na stopnie zaawansowania – zaawansowaną (w stosunku do kontroli). Co jest warte podkreślenia, tylko w przypadku fragmentu Bb, wskazującego na aktywację drogi alternatywnej, stwierdzono istotne statystycznie różnice w stężeniach w przypadku różnych wariantów genowych mutacji genu dla czynnika H dopełniacza (Y402H) (C, T, Y). Zaobserwowano również, że istotny statystycznie związek, pomiędzy stężeniami fragmentów układu dopełniacza iC3b, Sc5-9 oraz iC3b, Bb występował jedynie u pacjentów z jasnym kolorem tęczówki co może być powiązane z procesami fotoaktywacji układu dopełniacza.

Istotny statystycznie związek pomiędzy zwiększoną ekspozycją na światło a występowaniem AMD, obserwowano jedynie u pacjentów z wariantem genowym C dla czynnika H dopełniacza (Y402H). Podobne obserwacje dotyczą wpływu palenia na występowanie AMD. Dodatkowo zaobserwowano, iż osoby z zaawansowanym stadium AMD (zarówno postacią wysiękową jak i suchą) częściej noszą okulary z filtrem UV. Dodatkowo w przeprowadzonych badaniach potwierdzono związek pomiędzy występowaniem nadciśnienia tętniczego a występowaniem AMD (nie stwierdzono jednak związku między aktywacją układu dopełniacza a nadciśnieniem).

Uzyskane wyniki potwierdzają znaczącą rolę układu dopełniacza w patogenezie zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem, w badanej grupie pacjentów. Analiza wyników wskazuje, że AMD najprawdopodobniej jest lokalną manifestacją ogólnoustrojowej patologii powodującej deregulację układu dopełniacza. W pracy przeanalizowano czynniki ryzyka AMD występujące w badanej populacji pacjentów z Mazowsza, a także zachodzące pomiędzy nimi interakcje oraz potencjalny ich wpływ na aktywację układu dopełniacza, co może przełożyć się na bardziej precyzyjną diagnostykę i skuteczniejsze leczenie pacjentów. Ponadto potwierdzono, że konkretne warianty genowe mutacji genu dla czynnika H dopełniacza (Y402H), często dopiero w połączeniu z dodatkowym czynnikiem zewnętrznym zwiększają ryzyko zachorowania na zwyrodnienie plamki związane z wiekiem. Wiedza ta, w przyszłości może być wykorzystana w diagnostyce AMD, a informacje uzyskane w pracy doktorskiej mogą mieć wkład w lepsze rozumienie patogenezy choroby, skuteczniejsze poszukiwanie jej metod leczenia i prewencji opartych o regulację procesu aktywacji układu dopełniacza.