

(102)

Polimorfizm apolipoproteiny E u chorych ze zwyrodnieniem siatkówek związanym z wiekiem

The apolipoprotein E polymorphism in age related macular degeneration

Mariusz Nowak, Elżbieta Świętochowska¹, Bożena Szapska¹, Bogdan Marek, Tomasz Wielkoszyński³, Henryk Kozioł², Joanna Klimek², Dariusz Kajdaniuk, Beata Kos-Kudła⁴, Zofia Ostrowska¹, Jacek Karpe⁵, Joanna Głogowska-Szeląg, Lucyna Siemińska

Z Zakładu Patofizjologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii Śląskiej Akademii Medycznej

Kierownik: dr hab. n. med. Bogdan Marek

¹Z Zakładu Biochemii Klinicznej Śląskiej Akademii Medycznej, Szpital w Sosnowcu

Kierownik: dr hab. n. med. Zofia Ostrowska

²Z Kliniki Okulistyki Śląskiej Akademii Medycznej, Szpital w Sosnowcu

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Wanda Romaniuk

³Z Katedry i Zakładu Chemii Śląskiej Akademii Medycznej

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Danuta Bodzek

⁴Z Kliniki Endokrynologii Katedry Patofizjologii i Endokrynologii Śląskiej Akademii Medycznej

Kierownik: dr hab. n. med. Beata Kos-Kudła

⁵Z Katedry Anestezjologii i Intensywnej Terapii Śląskiej Akademii Medycznej

Kierownik: dr hab. n. med. Piotr Knapik

Summary:

Purpose: The aim of the study was to evaluate association of apo E polymorphism with AMD.

Material and methods: The included participants of this study were: 45 patients aged 60 to 71 (mean age $66,2 \pm 3,6$), treated because of AMD.

Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes, and the subsequent analysis of apo E genotypes was performed by polymerase chain reaction (PCR).

Results: In our study the allele frequencies in control group of patients were similar to the apo E allele distribution presented by other authors in Caucasian populations. We have not found significant differences between AMD and control group patients for apo (E) genotype or allele frequency. Compared with control group ($\epsilon 4$ -13,6%, $\epsilon 2$ -2,27%), the frequency of $\epsilon 4$ allele was not significantly decreased (11,11%) and $\epsilon 2$ allele frequency (7,77%) increased in AMD patients.

Conclusions: The results of our present study have not indicate a significant association between AMD development and apo E allele frequency, in our studied population of AMD patients.

Słowa kluczowe: AMD, apolipoproteina E, polimorfizm.

Key words: AMD, apolipoprotein E, polymorphism.

Obecny stan wiedzy nie pozwala na jednoznaczne rozpoznanie przyczyny rozwoju AMD. Apolipoproteina E (apo E), działając za pośrednictwem receptorów dla LDL-i oraz receptora LRP (LDL-receptor Related Protein), odgrywa rolę regulatora metabolizmu lipidowego. Zwiększając wychwyty składników lipidowych zawierających apo E, odgrywa rolę w homeostazie cholesterolu i triglicerydów (2). Gen dla apo E jest polimorficzny z obecnością trzech alleli: $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ oraz $\epsilon 4$. Najczęściej występującym genotypem u ludzi jest genotyp apo E3/3. Apo E jest głównym nośnikiem dla lipidów oraz cholesterolu w obrębie układu nerwowego oraz bierze udział w przebudowie błon komórkowych komórek nerwowych (1,4).

Powiązanie polimorfizmu genu apo E z występowaniem AMD było przedmiotem nielicznych wcześniejszych doniesień (6,8,10),

a w Polsce badania dotyczące tej problematyki nie były dotąd prowadzone. Wyniki dotychczasowych badań są niejednoznaczne, a ich interpretacja – często trudna. Souied i wsp. (10) oraz Klaver i wsp. (6) stwierdzili mniejszą częstość występowania allela $\epsilon 4$ w badanej grupie osób z rozpoznaną wysiękową postacią AMD. Inni badacze nie potwierdzili wyników tych badań, stwierdzając brak znamiennej statystycznie różnicy pomiędzy grupą osób badanych z AMD oraz grupą kontrolną w występowaniu poszczególnych alleli apo E (8).

Ze względu na krótki okres życia fotoreceptorów (około 10 dni) odbudowa błon komórkowych wydaje się niezmiernie ważna dla utrzymania prawidłowej fizjologii siatkówki, zwłaszcza w rejonie okołoplankowym. Zaburzenia tego procesu mogą być jedną z przyczyn prowadzących do rozwoju zmian degeneracyjnych.

Celem pracy jest próba oceny wpływu genotypu apolipoproteiny E na występowanie starczego zwyrodnienia siatkówek (AMD).

Materiał i metody

Grupę badaną stanowiło 45 osób z rozpoznaną późną formą AMD (postać wysiękowa) w wieku od 60 do 71 lat (średnio $66,2 \pm 3,6$ roku). Grupę kontrolną stanowiły 22 osoby w porównywalnym przedziale wiekowym z ujemnym wywiadem rodzinnym w kierunku AMD oraz schorzeń neurodegeneracyjnych ośrodkowego układu nerwowego (OUN).

DNA do badań genetycznych polimorfizmu apo E ekstrahowano z leukocytów krwi obwodowej, stosując ekstrakcję fenol/ chloroform. Analizę genotypu apo E przeprowadzono metodą PCR (polimerase chain reaction), zgodnie z metodyką przedstawioną przez innych autorów (5), polegającą na amplifikacji odcinka genu z użyciem primerów opisanych w literaturze (7). W celu uwidocznienia rozdzielonych produktów DNA żel srebrzono. Zeskanowane za pomocą skanera płaskiego żele analizowano za pomocą programu Gel-Scan. Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Śląskiej Akademii Medycznej (NN-013-275/01/02).

Wyniki i ich omówienie

Uzyskane wyniki badań genetycznych przedstawiono w tabeli I.

Występowanie poszczególnych alleli w grupie kontrolnej nie różniło się statystycznie od częstości ich występowania przedstawianej przez innych autorów w badaniach populacji rasy kaukaskiej (3,9). Częstość występowania poszczególnych genotypów apo E oraz poszczególnych alleli nie wykazywała różnicy znamiennej statystycznie pomiędzy grupą badaną oraz kontrolną. W stosunku do grupy kontrolnej częstość występowania $\epsilon 4$ allele była większa, aczkolwiek bez znamienności statystycznej.

Interesujący wydaje się fakt, że autorzy (6,10) wykazali obniżenie

ryzyka rozwoju AMD u osób będących nosicielami $\epsilon 4$ allele, podczas gdy w większości innych neurodegeneracyjnych schorzeń stwierdza się wyższe ryzyko ich wystąpienia u osób będących nosicielami tego allele. Możliwym wyjaśnieniem tego faktu jest to, że izoformy apo E w rejonie okołoplamkowym siatkówki mogą bądź różnić się zdolnościami wiązania, bądź wywoływać odpowiedzi inne niż w innych obszarach OUN.

Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań nie wykazano korelacji pomiędzy wystąpieniem AMD a polimorfizmem apolipoproteiny E w badanej przez nas populacji.

PIŚMIENICTWO: 1. Boyles J. K., Zoellner C. D., Anderson L. J., Kosik L. M., Pitas R. E., Weisgraber K. H., Hui D. Y.: *A role for apolipoprotein E, apolipoprotein A-I, and low density lipoprotein receptors in cholesterol transport during regeneration and remyelination of the rat sciatic nerve.* J. Clin. Invest., 1989, 83, 1015-1031. 2. Brown M. S., Goldstein J. L.: *A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis.* Science, 1986, 232, 34-47. 3. Davignon J., Gregg R. E., Sing C. F.: *Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis.* Atherosclerosis, 1988, 8, 1-21. 4. Handlemann G. E., Boyles J. K., Weisgraber K. H., Mahley R. W., Pitas R. E.: *Effect of apolipoprotein E, b- very low density lipoproteins, and cholesterol on the extension of neurites by rabbit dorsal root ganglion neurons in vitro.* J. Lipid. Res., 1992, 33, 1677-1688. 5. Hixon J. E., Vernier D. T.: *Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI.* J. Lipid. Res., 1990, 31, 545-548. 6. Klaver C. C. W., Kliffen M., van Duijn C. M., Hofman A., Cruts M., Grobbee D. E., van Broeckhoven C., de Jong P. T. V. M.: *Genetic association of apolipoprotein E with age-related macular degeneration.* Am. J. Hum. Genet., 1998, 63, 200-206. 7. Kontula K., Aalto-Setälä K., Kuusi L., Hamalainen L., Syvanen A. C.: *Apolipoprotein E polymorphism determined by restriction enzyme analysis of DNA amplified by polymerase chain reaction: Convenient alternative to phenotyping by isoelectric focusing.* Clin. Chem., 1990, 36, 2087-2092. 8. Pang C. P., Baum L., Chan W. M., Lau T. C., Poon P. M. K., Lam D. S. C.: *The apolipoprotein E $\epsilon 4$ allele is unlikely to be a major risk factor of age-related macular degeneration in Chinese.* Ophthalmologica, 2000, 214, 289-291. 9. Smit M., de Knijff P., Rosseneu M., Bury J., Klasen E., Frants R., Hevekes L.: *Apolipoprotein E polymorphism in the Netherlands and its effect on plasma lipid and apolipoprotein levels.* Hum. Genet., 1988, 80, 287-292. 10. Souied E. H., Benlian P., Amouyel P., Feingold J., Lagarde J. P., Munnich A., Kaplan J., Coscas G., Soubrane G.: *The $\epsilon 4$ allele of the apolipoprotein E gene as a potential protective factor for exudative age-related macular degeneration.* Am. J. Ophthalmol., 1998, 125, 353-359.

Praca wpłynęła do Redakcji 16.04.2004 r. (469).

Genotyp apo E	AMD (n = 45)		Kontrola (n = 22)		P
	n	(%)	n	(%)	
E2/2	2	4,44	0	0	NS
E2/3	3	6,66	1	4,50	NS
E2/4	0	0	0	0	
E3/3	30	66,66	15	68,10	NS
E3/4	10	22,22	6	27,20	NS
E4/4	0	0	0	0	
Total	45	100,00	22	100,00	
Apo $\epsilon 4$ nosiciele	10	23,33	6	27,20	NS
Apo $\epsilon 2$ nosiciele	5	11,00	1	4,55	NS
Apo E allele	n	(%)	n	(%)	
$\epsilon 2$	7	7,77	1	2,27	NS
$\epsilon 3$	73	81,11	37	84,10	NS
$\epsilon 4$	10	11,11	6	13,63	NS
suma	90	100,00	44	100,00	

Tab. I. Genotypy apolipoproteiny E oraz częstość występowania poszczególnych alleli w grupie osób badanych ze zwyrodnieniem siatkówki związanym z wiekiem oraz w grupie kontrolnej.

Tab. I. Apolipoprotein E genotype and allele frequencies in patients with Age-related macular degeneration (AMD) and in control patients.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr n. med. Mariusz Nowak
Zakład Patofizjologii Katedry Patofizjologii
i Endokrynologii Śląskiej AM
pl. Traugutta 2
41-800 Zabrze