

Rola układu dopełniacza w patogenezie AMD

Role of complement system in the pathogenesis of AMD

Anna Machalińska^{1,2}, Danuta Karczewicz³

¹ Z Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Barbara Wiszniewska

² Z Katedry i Zakładu Patologii Ogólnej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Bogusław Machaliński

³ Z Katedry i Kliniki Okulistyki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

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

Summary:

Age related macular degeneration (AMD), is the leading cause of blindness in individuals over age 50 years old. The pathogenesis of AMD is still not well understood with both genetic and environmental factors known to influence susceptibility to this condition. Data accumulated in the last decade implicate the chronic inflammatory processes as playing an important role in the progression of AMD. According to the recent findings, complement system is suggested to be a triggering point of the initiation of pathologic inflammatory response in the development and clinical course of AMD.

Słowa kluczowe:

zwyrrodnienie plamki związane z wiekiem, układ dopełniacza, miażdżyca.

Key words:

age-related macular degeneration, complement system, arteriosclerosis.

Zwyrrodnienie plamki związane z wiekiem (ang. age-related macular degeneration – AMD) stanowi główną przyczynę utraty wzroku populacji osób powyżej 50. roku życia w krajach wysoko rozwiniętych. Choroba ta może objawiać się powolną utratą widzenia w formie tzw. suchej, atroficznej. Przebieg jej może być jednak gwałtowny i progresywny w postaci wysiękowej. Patogeneza AMD nie jest dotychczas jednoznacznie wyjaśniona i jest przedmiotem ciągłych badań. Wyniki wielu analiz epidemiologicznych podkreślają znaczenie zarówno predyspozycji genetycznej, jak i wpływów środowiskowych, wskazując, że wiele różnych czynników przyczynia się do rozwoju choroby. Doniesienia z ostatnich lat dowodzą istnienia przewlekłego stanu zapalnego leżącego u podłoża rozwoju choroby, sugerując kluczową i nadrzędną rolę układu dopełniacza w inicjowaniu patologicznej odpowiedzi zapalnej w AMD (1).

Układ dopełniacza

Układ dopełniacza stanowi dużą grupę ponad 30 białek osocza oraz białek powierzchniowych stanowiących część układu odpornościowego. Średnia ich zawartość w jednym litrze osocza wynosi 3 g. Składowe dopełniacza są syntetyzowane głównie w hepatocytach, aczkolwiek wiele innych komórek, takich jak monocyty, komórki endotelium, neurony, komórki glejowe czy nabłonka barwnikowego, jest zaangażowanych również w ich produkcję. Główną funkcją układu białek dopełniacza są obrona przeciwzakazna, niszczenie patogenów i eliminacja antygenów obcych. Ponadto białka dopełniacza łącząc się z komórkami zużytymi, martwymi czy apoptotycznymi w obszarach uszkodzenia i niedokrwienia, stanowią istotny element umożliwiający utrzymanie wewnętrznej homeostazy organizmu. Aktywacja poszczególnych białek zachodzi w sposób kaskadowy,

tj. każde białko posiadając aktywność enzymatyczną, katalizuje rozpad i aktywację kolejnego białka, prowadząc ostatecznie do powstania kompleksu atakującego błonę komórkową (MAC). Ostateczny efekt aktywacji układu dopełniacza to liza komórki, mobilizacja komórek zapalnych oraz wzrost przepuszczalności naczyń krwionośnych.

Pobudzenie układu dopełniacza może przebiegać trzema drogami – klasyczną, lektynową oraz alternatywną, przy czym sugeruje się, że droga alternatywna stanowi potencjalny czynnik sprawczy odpowiedzialny za rozwój AMD. Wszystkie drogi prowadzą do utworzenia konwertazy białka C3, kluczowego białka stanowiącego zasadniczy etap kaskady dopełniacza. Na tym poziomie dochodzi do aktywacji wielu białek pomocniczych, regulatorowych, które zapewniają swoistość reakcji dopełniacza, uniemożliwiając jego aktywację i proces destrukcji w komórkach prawidłowych. Białka te stanowią liczną grupę o złożonym mechanizmie działania, z których najbardziej istotne z punktu widzenia patogenezy AMD to czynnik H, czynnik B i białko CD59. Prawidłowe współdziałanie wszystkich elementów układu dopełniacza, zarówno tych zaangażowanych bezpośrednio w powstanie MAC i destrukcję komórki docelowej, jak i białek regulatorowych, warunkuje prawidłowy przebieg odpowiedzi zapalnej i sprawne funkcjonowanie układu odpornościowego (2).

Układ dopełniacza w patogenezie AMD

Koncepcję roli zapalenia w patogenezie zwyrrodnienia plamki związanego z wiekiem zainicjowały badania histopatologiczne gałek ocznych pacjentów z AMD, wykazujące obecność wielu mediatorów procesu zapalnego, w tym również elementów układu dopełniacza, w obrębie druzów. W ich obrębie stwierdzono obecność składowych C3a i C5a, pełniących funkcję

anafilatoksyn o silnym działaniu prozapalnym, kompleksu C5b-9 oraz wielu białek regulacyjnych (3). Wysłunięto hipotezę, że druzy stanowią efekt miejscowego pobudzenia odpowiedzi zapalnej w odpowiedzi na miejscowe uszkodzenie nabłonka barwnikowego i mogą stanowić efekt lokalnego zaburzenia równowagi między czynnikami stymulującymi proces aktywacji dopełniacza a czynnikami go regulującymi. Dodatkowo stwierdzono, że druzy w przebiegu AMD pod względem składu i morfologii są analogiczne do depozytów i złogów w kłębuszkach nerkowych obecnych w błoniasto-rozplymowym kłębuszkowym zapaleniu nerek typu 2. (MPGBII) (1). Schorzenie to, wywołane dysfunkcją alternatywnej drogi aktywacji dopełniacza, jest wynikiem zaburzonej funkcji układu dopełniacza, u podstaw której leżą niedobór czynnika H lub jego brak. Zainteresowanie badaczy zostało zatem skierowane w stronę składowych regulatorowych kaskady dopełniacza, w tym również białka H.

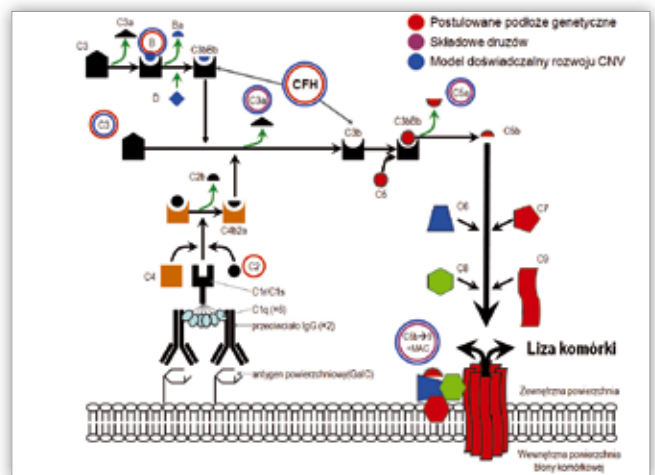
Dalszy postęp w badaniach nad znaczeniem układu dopełniacza w patogenezie AMD nastąpił w 2005 roku, kiedy równoległe cztery niezależne ośrodki badawcze wykazały istotny związek między polimorfizmem genu białka H a zachorowalnością na AMD (4). W badaniach epidemiologicznych udowodniono, że zmiana pozycji pary zasad w pozycji 402 genu *Y402H* znacząco zwiększa ryzyko wystąpienia AMD – 2-4-krotnie w przypadku heterozygot oraz 5-7-krotnie w odniesieniu do homozygot. Liczne doniesienia dowodzą także, że ryzyko to jest zróżnicowane w różnych grupach etnicznych, przy czym np. w populacji Japończyków nie wykazano żadnego związku między polimorfizmem genu czynnika H a występowaniem AMD.

Nieliczne prace dowodzą istnienia istotnej statystycznie zależności między paleniem papierosów a genotypem pacjenta, wykazując znaczny wzrost ryzyka AMD u palaczy będących jednocześnie nosicielami zmutowanego genu (5). Sugeruje się, że wrodzone defekty genetyczne układu dopełniacza mogą predysponować do rozwoju AMD, które rozwija się jednak w obecności innych czynników, również środowiskowych. Badania uwzględniające stopień zaawansowania schorzenia wykazały istotną korelację między genotypem a fenotypem, wskazując na zwiększone ryzyko wystąpienia postaci wysiękowej AMD, a także szybszy początek choroby u pacjentów genetycznie predysponowanych (5). Genotyp pacjenta nie tylko ma przełożenie na obraz kliniczny choroby, ale także rzutuje na efekty terapeutyczne. Udowodniono, że pacjenci będący homozygotycznymi nosicielami zmutowanego genu znacznie gorzej odpowiadają na leczenie bevacizumabem (6).

Doniesienia opublikowane w kolejnych latach dowodzą, że ryzyko wystąpienia AMD zależy również od wariacji genów odpowiadających innym składowym dopełniacza. Wykazano istotny związek między polimorfizmem genu czynnika B, składowej C2 oraz białka C3 a zapadalnością na AMD (7,8). Najnowsze badania wykazują ponadto istotną zależność między genem *SERPING1*, odpowiedzialnym za ekspresję inhibitora czynnika C1 a AMD, co może wskazywać na aktywację również klasycznej drogi dopełniacza w patogenezie tej choroby (9).

Zmiana struktury genu i, co z tego wynika, zmieniona ekspresja białka mogą skutkować zaburzeniem jego struktury i funkcji, prowadząc do nadmiernej aktywacji układu immunologicznego, aczkolwiek dokładne mechanizmy patofizjologiczne leżące u podłoża tych zmian nie zostały do tej pory precyzyjnie

zdefiniowane. Wielu autorów próbując ustalić doświadczalnie udział czynników zapalnych w patogenezie AMD, podjęło badania na modelu zwierzęcym, wykazując kluczowe znaczenie układu dopełniacza w rozwoju neowaskularyzacji naczyńkowej (ang. choroidal neovascularization – CNV). Na ich podstawie stwierdzono bezpośredni związek przyczynowo-skutkowy między aktywacją dopełniacza a nowotworzeniem naczyń w obrębie CNV. Dowiedzono, że blokada farmakologiczna składowej C3 całkowicie hamuje rozwój neowaskularyzacji wywołanej wiązką laserową. Układ dopełniacza wykazuje regulacyjny wpływ na sekrecję wielu czynników angiogennych. Zahamowanie kaskady dopełniacza znacząco zmniejsza wydzielanie VEGF (ang. vascular-endothelial growth factor), bFGF (ang. basic fibroblast growth factor) i TGF-B2 (ang. transforming growth factor B2). Supresja genów swoistych dla anafilatoksyn C3a i C5a zarówno znacząco zmniejsza ekspresję VEGF, jak i hamuje rekrutację komórek zapalnych i rozwój neowaskularyzacji, co może sugerować istotną rolę układu dopełniacza w progresji wysiękowej postaci AMD (10) (ryc. 1).



Ryc. 1. Układ dopełniacza w patogenezie AMD.

Fig. 1. Complement system in pathogenesis of AMD.

Istnieją doniesienia dowodzące, że AMD łączy się nie tylko z miejscowym pobudzeniem układu dopełniacza, ale także znajduje odzwierciedlenie w jego systemowej aktywacji. W badaniach własnych wykazaliśmy podwyższony poziom składowej C3a dopełniacza w osoczu u pacjentów z wysiękową postacią AMD. Składowa C3a, stanowiąc kluczowe białko dla wszystkich trzech szlaków aktywacji, odzwierciedla czynność układu dopełniacza, pełniąc jednocześnie funkcję anafilatoksyny o silnym działaniu pozapalnym. Uzyskane przez nas wyniki oraz wyniki innych autorów wskazują, że AMD może stanowić lokalną manifestację choroby uogólnionej, o szerszym zasięgu. Wykazaliśmy ponadto istotnie statystycznie wyższe stężenia składowej C3a u pacjentów z AMD z klinicznie udokumentowanymi objawami miażdżycy, manifestującymi się jako przebyte udar niedokrwieniny mózgu, zawał serca czy zwężenie tętnicy szyjnej w badaniu dopplerowskim (11).

Aterogeneza a rozwój AMD

Potencjalny związek między układem komplementu a patogenezą miażdżycy jest przedmiotem ekstensywnych badań

(12). Wzrost stężenia składowych dopełniacza w osoczu stanowi ustalony wykładnik chorób o podłożu naczyniopochodnym, będących efektem sklerotyzacji naczyń krwionośnych. Autorzy wielu prac donoszą, że podwyższony poziom białka C3 we krwi zwiększa ryzyko wystąpienia udaru mózgu, zawału serca, nadciśnienia tętniczego czy cukrzycy, stanowiąc jednocześnie istotny marker zagrożenia ostrą chorobą niedokrwienną serca (13). Wiele doniesień potwierdza istotny związek miażdżycy z AMD. Kliniczne i epidemiologiczne badania bezspornie dowodzą udziału naczyniowych czynników ryzyka w rozwoju AMD, takich jak wiek i palenie papierosów. Niektórzy autorzy wymieniają także nadciśnienie tętnicze, dyslipidemię, otyłość, zaburzenia tolerancji glukozy czy siedzący tryb życia jako czynniki, które również mogą korelować z zachorowalnością na AMD. Związek ten potwierdzają ostatnie doniesienia dowodzące, że rozwój AMD może poprzedzać w czasie wystąpienie incydentów naczyniowych związanych z zagrożeniem życia. Wykazano, że zaawansowana postać AMD 10-krotnie zwiększa ryzyko zgonu z powodu udaru mózgu oraz 5-krotnie podwyższa śmiertelność związaną z chorobą niedokrwienną serca, wg porównania z grupą pacjentów bez zmian na dnie oka (14). Zmiany w błonie wewnętrznej naczyń krwionośnych w przebiegu miażdżycy wykazują wiele podobieństw do całokształtu patologii w obrębie błony Brucha obserwowanych w AMD. Zarówno w druzach, jak i w blaszce miażdżycowej wykazano akumulację złogów lipidowych, stwierdzono podobne zmiany w macierzy pozakomórkowej, a także – co istotne – w obu zmianach patologicznych wykryto obecność składowych układu dopełniacza (15). Ponadto istotnym objawem towarzyszącym obu schorzeniom jest neowaskularyzacja, pochodząca z naczyń typu *vasa vasorum* w przypadku sklerotyzacji naczyniowej w miażdżycy i naczyń naczyniówki w AMD. Sugeruje się, że miażdżycę naczyń krwionośnych i AMD stanowią różne manifestacje tej samej choroby indukowanej patologiczną odpowiedzią komórek i tkanek na uszkodzenie wywołane stresem oksydacyjnym i niedokrwieniem. Postuluje się więc istnienie wspólnego mechanizmu patofizjologicznego leżącego u podstaw rozwoju obu chorób, w którym istotne znaczenie mają przewlekły stan zapalny i towarzysząca mu aktywacja układu dopełniacza. Układ dopełniacza może stanowić ogniwo łączące w patogenezie AMD i chorób naczyniowych, takich jak choroba niedokrwienna serca, mózgu czy innych narządów. Potwierdzenie tej koncepcji wymaga jednak dalszych, szczegółowych badań – co z pewnością nastąpi w niedalekiej przyszłości i wpłynie na rozstrzygnięcie tej kwestii.

Podsumowanie

Lokalny stan zapalny stanowi bardzo istotny element w patofizjologii rozwoju zmian na dnie oka w przebiegu AMD. Kluczową rolę odgrywa w tym procesie aktywacja układu dopełniacza, co potwierdzają liczne badania histopatologiczne, genetyczne i doświadczalne. Badania te sugerują, że układ dopełniacza może stanowić potencjalny cel w strategii terapeutycznej. Odkrycia te już teraz znalazły przełożenie na praktykę kliniczną. Badania nad zastosowaniem nowej generacji leków-inhibitorów układu dopełniacza w leczeniu AMD są na etapie badań klinicznych. Podawane są one doszklitkowo i mogą stanowić alternatywę dla inhibitorów VEGF, aczkolwiek brakuje jak dotąd pogłębionych danych na temat ich skuteczności.

Aktywacja dopełniacza stanowi ważny element w patogenezie zmian naczyniowych w przebiegu miażdżycy. Doniesienia dowodzące korzystnego wpływu inhibitora składowej C5 dopełniacza na leczenie choroby niedokrwiennej serca oraz związek między obiema chorobami sugerują, że podobna terapia mogłaby przynieść korzystny efekt również w leczeniu AMD (16). Dokładniejsze poznanie mechanizmów patofizjologicznych odpowiedzialnych za progresję zmian patologicznych w przebiegu AMD umożliwia stopniowe opracowywanie skuteczniejszych strategii leczniczych, dając nadzieję lekarzom i pacjentom.

Piśmiennictwo:

1. Donoso LA, Kim D, Frost A, Callahan A, Hageman G: *The role of inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration*. Surv Ophthalmol 2006, 51, 137-152. Review.
2. Walport MJ: *Complement. Second of two parts*. N Engl J Med 2001, 344, 1140-1144. Review.
3. Johnson LV, Leitner WP, Staples MK, Anderson DH: *Complement activation and inflammatory processes in Drusen formation and age related macular degeneration*. Exp Eye Res 2001, 73, 887-896.
4. 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 2005, 308, 385-389.
5. Brantley MA Jr, Edelstein SL, King JM, Apte RS, Kymes SM, Shiels A: *Clinical phenotypes associated with the complement factor H Y402H variant in age-related macular degeneration*. Am J Ophthalmol 2007, 144, 404-408.
6. Brantley MA Jr, Fang AM, King JM, Tewari A, Kymes SM, Shiels A: *Association of complement factor H and LOC387715 genotypes with response of exudative age-related macular degeneration to intravitreal bevacizumab*. Ophthalmology 2007, 114, 2168-2173.
7. Gold B, Merriam JE, Zernant J, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs K, Cramer K, Neel J, Bergeron J, Barile GR, Smith RT: *AMD Genetics Clinical Study Group, Hageman GS, Dean M, Allikmets R: Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration*. Nat Genet 2006, 38, 458-462.
8. Yates JR, Sepp T, Matharu BK, Khan JC, Thurlby DA, Shahid H, Clayton DG, Hayward C, Morgan J, Wright AF, Ambrecht AM, Dhillon B, Deary IJ, Redmond E, Bird AC, Moore AT: *Genetic Factors in AMD Study Group: Complement C3 variant and the risk of age-related macular degeneration*. N Engl J Med 2007, 357, 553-561.
9. Ennis S, Jomary C, Mullins R, Cree A, Chen X, Macleod A, Jones S, Collins A, Stone E, Lotery A: *Association between the SERPING1 gene and age-related macular degeneration: a two-stage case-control study*. Lancet 2008, 372, 1828-1834.
10. Bora PS, Sohn JH, Cruz JM, Jha P, Nishihori H, Wang Y, Kalliappan S, Kaplan HJ, Bora NS: *Role of complement and complement membrane attack complex in laser-induced choroidal neovascularization*. J Immunol 2005, 174, 491-497.
11. Machalińska A, Dziedziczko V, Mozolewska-Piotrowska K, Karzewicz D, Wszniewska B, Machaliński B: *Elevated plasma le-*

- vels of C3a complement compound in exudative form of age-related macular degeneration. *Ophthalmic Res* 2009, 42, 54-59.
12. Niculescu F, Rus H: *The role of complement activation in atherosclerosis*. *Immunol Res* 2004, 30, 73-80.
13. Engström G, Hedblad B, Janzon L, Lindgärde F: *Complement C3 and C4 in plasma and incidence of myocardial infarction and stroke: a population-based cohort study*. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2007, 14, 392-397.
14. Tan JS, Wang JJ, Liew G, Rochtchina E, Mitchell P: *Age-related macular degeneration and mortality from cardiovascular disease or stroke*. *Br J Ophthalmol* 2008, 92, 509-512.
15. Sivaprasad S, Bailey TA, Chong VN: *Bruch's membrane and the vascular intima: is there a common basis for age-related changes and disease?* *Clin Experiment Ophthalmol* 2005, 33, 518-523. Review.
16. Fleisig AJ, Verrier ED: *Pexelizumab – a C5 complement inhibitor for use in both acute myocardial infarction and cardiac surgery with cardiopulmonary bypass*. *Expert Opin Biol Ther* 2005, 5, 833-839.

Praca wpłynęła do Redakcji 30.12.2008 r. (1096)
Zakwalifikowano do druku 30.10.2009 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr n. med. Anna Machalińska
Katedra i Zakład Patologii Ogólnej
Pomorska Akademia Medyczna
ul. Powstańców Wielkopolskich 72
70-111 Szczecin
e-mail: machalin@sci.pam.szczecin.pl

Święta Bożego Narodzenia w szczególny sposób przypominają nam o Nadziei obecnej w życiu każdego człowieka. Życzę, aby Święta te przebiegły w niezapomnianej atmosferze ciepła i radości, aby dały siłę do realizacji osobistych zamierzeń...

Z okazji zbliżającego się Nowego Roku proszę przyjąć życzenia zdrowia i wszelkiej pomyślności w każdym dniu 2010 roku.

Redakcja i Wydawca