

Znaczenie ekspresji oraz polimorfizmów genów związanych z neurodegeneracją dla rozwoju jaskry pierwotnej otwartego kąta

mgr Alicja Nowak

Streszczenie

Jaskra jest chorobą oczu i stanowi drugą, po zaćmie, przyczynę utraty wzroku na świecie. Obecnie szacuje się, że osób cierpiących na jaskrę jest około 70 mln, natomiast każdego roku z jej powodu wzrok traci blisko 2,4 mln ludzi. Najczęstszym typem jaskry jest jaskra pierwotna otwartego kąta (JPOK). Dane epidemiologiczne pokazują, że w Polsce stanowi ona prawie 80% osób chorych na jaskrę. JPOK charakteryzuje się śmiercią komórek zwojowych siatkówki (RGC), utratą aksonów oraz zmianą w wyglądzie tarczy nerwu wzrokowego. Konsekwencją tych zmian są ubytki w polu widzenia, które ostatecznie mogą doprowadzić do nieodwracalnej utraty wzroku. Głównym czynnikiem ryzyka JPOK jest podniesione ciśnienie wewnątrzgałkowe (IOP). Jednakże, istnieją doniesienia o występowaniu jaskry u osób z prawidłowym IOP. Stąd, uważa się, że musi istnieć inny mechanizm, niezależny od IOP, prowadzący do zwyrodnienia jaskrowego.

Z uwagi na fakt, iż jaskra zaliczana jest do chorób neurodegeneracyjnych, rolę w rozwoju tej choroby mogą odgrywać podobne czynniki jak w przypadku choroby Alzheimera, Parkinsona czy stwardnienia rozsianego. Uważa się, że jednym z czynników prowadzących do rozwoju jaskry może być apolipoproteina E (APOE), białko odgrywające kluczową rolę w procesie degeneracji komórek nerwowych w chorobie Alzheimera. Podwyższony poziom APOE prowadzi do wzrostu cytotoksyczności w komórce głównie poprzez udział w tworzeniu złogów β -amyloidu. Badania przeprowadzone na modelu zwierzęcym z eksperymentalnie wywołaną jaskrą wykazały, że β -amyloid jest również odkładany w komórkach zwojowych siatkówki. Obumieranie neuronów w chorobach neurodegeneracyjnych wydaje się zachodzić na drodze apoptozy, czyli zaprogramowanej śmierci komórki. Apoptoza komórek RGC w jaskrze może być związana z deficytem neurotrofin, czyli związków niezbędnych do prawidłowego wzrostu i funkcjonowania komórek nerwowych. Neurotropowy czynnik pochodzenia mózgowego (BDNF) jest jedną z głównych neurotrofin zaangażowaną w rozwój i przeżycie neuronów. Białka szoku cieplnego (HSP), ze względu na swoją protekcyjną rolę w komórce, mogą również brać udział w naprawie

uszkodzeń w obrębie nerwu wzrokowego mających miejsce podczas rozwoju jaskry. Podwyższony poziom białek HSP, jako białek opiekuńczych, we wczesnym stadium choroby może być związany z udziałem tych białek w mechanizmach obronnych, które są aktywowane w komórce w odpowiedzi na różne uszkodzenia jaskrowe. Z drugiej jednak strony, w późniejszych stadiach choroby białka HSP mogą stymulować układ immunologiczny do produkcji przeciwciał anti-HSP, które mogą nasilać apoptozę komórek nerwowych, a tym samym prowadzić do progresji choroby. Dlatego, celem pracy była analiza wpływu wariantów polimorficznych genów *APOE*, *BDNF*, *HSP70-1* oraz poziomu ich ekspresji na ryzyko wystąpienia oraz progresję jaskry pierwotnej otwartego kąta.

Materiał wykorzystany do analizy genotypów stanowiła krew pozyskana od 393 pacjentów z jaskrą pierwotną otwartego kąta (średni wiek $73 \pm 10,29$) oraz od 436 osób z grupy kontrolnej, u których nie zdiagnozowano jaskry (średni wiek $67 \pm 13,17$). Do analizy rozkładu genotypów i alleli badanych polimorfizmów genów wykorzystano metodę łańcuchowej reakcji polimerazy - polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (ang. *restriction fragment length polymorphism*, PCR-RFLP). W celu zbadania poziomu ekspresji mRNA genów *APOE*, *BDNF* oraz *HSP70-1* zastosowano metodę ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. *quantitative PCR*, QPCR). Materiał stanowiła krew od 84 osób z JPOK oraz 79 osób z grupy kontrolnej. Analizę ekspresji badanych genów na poziomie białka wykonano testem ELISA, w której materiał do badań stanowiła surowica i ciecz wodnista pozyskany od 30 pacjentów z JPOK oraz 30 osób z grupy kontrolnej.

Wyniki wykazały, że obecność genotypu T/T oraz allele T polimorfizmu rs449647 genu *APOE*, genotypów C/T i T/T oraz allele T polimorfizmu rs2030324 genu *BDNF*, jak również genotypu A/A polimorfizmu rs6265 genu *BDNF* może być związana z podniesieniem ryzyka wystąpienia jaskry pierwotnej otwartego kąta. Ponadto, analiza statystyczna wykazała istotny związek polimorfizmu rs2030324 genu *BDNF* oraz rs1043618 genu *HSP70-1* z progresją jaskry pierwotnej otwartego kąta w zależności od parametrów klinicznych. Przeprowadzona analiza poziomu ekspresji badanych genów wykazała znaczący wzrost ekspresji genu *APOE* na poziomie mRNA oraz białka we krwi pacjentów z JPOK w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej. Dodatkowo, zaobserwowano tendencję do wzrostu stężenia APOE w cieczy wodnistej u pacjentów z JPOK w porównaniu z grupą kontrolną. Odnotowano również, że poziom ekspresji mRNA genu *HSP70-1* był istotnie niższy w przypadku osób z genotypem homozygotycznym G/G w porównaniu z osobami będącymi nosicielami recesywnego allele C, w tym heterozygoty G/C oraz homozygoty C/C (polimorfizm rs1043618). Z kolei, poziom białka APOE w surowicy był istotnie wyższy dla homozygot T/T w porównaniu

z heterozygotami A/T polimorfizmu rs449647. Analiza poziomu ekspresji badanych genów z parametrami klinicznymi pacjentów z JPOK ujawniła związek poziomu mRNA genu *BDNF* oraz genu *HSP70-1*, jak również poziomu białka APOE z progresją jaskry pierwotnej otwartego kąta.

Badania wykonane w ramach niniejszej pracy wykazały, że zmiany neurodegeneracyjne obserwowane w jaskrze mają różne podłoże i wiele czynników może brać udział w zainicjowaniu choroby, jak również w jej progresji. Warianty polimorficzne genów oraz zmiany w poziomach ich ekspresji mogą mieć związek nie tylko ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia choroby, ale również na jej przebieg. Opisane w pracy wyniki mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów prowadzących do obumierania komórek zwojowych siatkówki podczas rozwoju jaskry pierwotnej otwartego kąta, a tym samym mogą być pomocne w opracowaniu skuteczniejszych strategii terapeutycznych. Dodatkowo, identyfikacja wariantów polimorficznych genów związanych z patogenezą jaskry może być wykorzystana jako marker prognostyczny pozwalający na skuteczniejszy wybór zindywidualizowanego sposobu leczenia, a co się z tym wiąże lepszą prognozą dla pacjenta.

KIEROWNIK
Zakładu Chemii i Biochemii Klinicznej
Wydziału Wojskowo-Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego
90-647 Łódź, pl. Hallera 1
prof. dr hab. n. med. Ireneusz Majsterek
Aliga Nowak