

Received: 2006.10.03
Accepted: 2006.12.27
Published: 2007.01.23

Potencjalny udział stresu oksydacyjnego w patogenezie zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem (AMD)

The potential role of oxidative stress in the pathogenesis of the age-related macular degeneration (AMD)

Monika Drobek-Słowik¹, Danuta Karczewicz¹, Krzysztof Safranow²

¹ Katedra i Klinika Okulistyki Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

² Katedra Biochemii i Chemii Medycznej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie, Zakład Biochemii Pomorskiej Akademii Medycznej

Streszczenie

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem jest jedną z najczęstszych przyczyn ślepoty u ludzi starszych. Mimo iż choroba staje się coraz poważniejszym problemem społecznym, jej patogenesa pozostaje wciąż niepewna. Degeneracja plamki dotyczy tylnego bieguna siatkówki – miejsca najostrzejszego widzenia. Duże stężenie tlenu, stała ekspozycja na światło oraz obecność fotoutczulaczy, to czynniki, które sprzyjają generacji reaktywnych form tlenu w tym rejonie. Stres oksydacyjny jest wzmagany również przez gromadzącą się wraz z wiekiem w komórkach nabłonka barwnikowego okolicy plamki lipofuscynę. Barwnik ten w znacznie większej ilości pojawia się w oczach z AMD w porównaniu z oczami zdrowymi. Wśród najczęściej wymienianych czynników ryzyka zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem są: wiek powyżej 65 lat, predyspozycja genetyczna, palenie papierosów, otyłość, ekspozycja na światło niebieskie, jasny kolor tęczówek. Poza czynnikiem genetycznym, pozostałe czynniki wiążą się ze zwiększonym wytwarzaniem wolnych rodników w organizmie i na poziomie siatkówki.

Naturalną barierą chroniącą tylny biegun siatkówki jest przedreceptorowy filtr utworzony przez dwa dihydroksykarotenoidy – luteinę i zeaksantynę. Wykazują one działanie antyoksydacyjne oraz pochłaniają rodnikogenne światło niebieskie. W oczach ze zwyrodnieniem plamki stwierdza się istotnie mniejszą gęstość barwnika plamki, czyli większe ryzyko uszkodzenia z powodu stresu oksydacyjnego.

Liczne badania dowiodły, że dieta uboga w antyoksydanty (witaminy C, E, karotenoidy, cynk) oraz małe osoczowe stężenia substancji o działaniu antyoksydacyjnym sprzyjają rozwojowi zwyrodnienia plamki. Wykazano również, że ich suplementacja może zapobiegać, zahamować lub spowolnić rozwój choroby.

Słowa kluczowe:

zwyrodnienie plamki związane z wiekiem • AMD • stres oksydacyjny • barwnik plamki • antyoksydanty

Summary

Age-related macular degeneration (AMD) is one of the most important causes of blindness among the elderly. Although the disease presents a serious social problem, its pathogenesis is still unclear. AMD involves the posterior pole of the retina, the place responsible for acute vision. Retinal factors (intensive oxygen metabolism, continual exposure to light, a high concentration of polyunsaturated fatty acids, the presence of photosensitizers) increase the production of reactive oxygen species. Oxidative stress is aggravated by the presence of lipofuscin. The pigment accu-

mulates with age, especially in the eyes of those with AMD. The most important risk factors for AMD, beside genetic predisposition, are factors leading to oxidative stress in the retina, e.g. age above 65 years, cigarettes smoking, obesity, exposition to blue light, and bright irises.

Macular pigment is a natural barrier protecting the central retina against oxidative damage. It is formed by two dihydroxycarotenoids, lutein and zeaxanthin. The prerenal location of the macular pigment permits it to act as an optical filter that absorbs short-wavelength visible light. Carotenoids also demonstrate antioxidant activity. Eyes with a predisposition to develop AMD or which already have developed the disease have considerably less macular pigment and a greater risk of oxidative damage compared with healthy eyes.

Investigations have shown that diet poor in antioxidant micronutrients (vitamin C, E, carotenoids, zinc) and low plasma levels of antioxidants may favor the development of the age-related macular degeneration. The findings demonstrated that micronutrient supplementation enhances antioxidant defense and might prevent or retard AMD or modify the course of the disease.

Key words: age-related macular degeneration • AMD • oxidative stress • macular pigment • antioxidants

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10045.pdf

Word count: 3615

Tables: –

Figures: 7

References: 67

Adres autorki: dr n. med. Monika Drobek-Słowik, Katedra i Klinika Okulistyki Pomorskiej Akademii Medycznej, ul. Powstańców Wlkp. 72, 70-111 Szczecin; e-mail: droba@vp.pl

WPROWADZENIE

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem (age-related macular degeneration – AMD) jest postępującą chorobą centralnej części siatkówki o charakterze degeneracyjnym, zwykle obuoczną, ujawniającą się najczęściej po 50 r.ż. i przebiegającą z pojawieniem się następujących zmian: druzów, ognisk hipo- i hiperpigmentacji nabłonka barwnikowego, zaniku geograficznego nabłonka barwnikowego, odwarstwienia nabłonka barwnikowego, neowaskularyzacji naczyńkowej lub blizny włóknistonaczyniowej. Chorobie może towarzyszyć postępujące obniżenie ostrości wzroku, jednak brak zaburzeń widzenia nie wyklucza rozpoznania AMD [9,38]. Na rycinie 1 przedstawiono zdrowe dno oka. Kolejne ryciny (2 i 3) obrazują dno oka ze zmianami zwyrodnieniowymi tylnego bieguna siatkówki: sucha i wysiękowa postać AMD.

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem staje się obecnie coraz poważniejszym problemem w starzejącym się społeczeństwie ze względu na ograniczone możliwości leczenia i stały wzrost liczby przypadków. Choroba ta jest obecnie najczęstszą przyczyną nieodwracalnej utraty widzenia u osób w wieku powyżej 65 lat [40]. W populacji 75-latków, prawie ¼ osób dotknięta jest starym zwyrodnieniem plamki, a ponad 5% z nich cierpi z powodu bardziej niebezpiecznej, wysiękowej postaci choroby [39].

Do najważniejszych czynników ryzyka zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem należą: wiek, palenie papierosów, otyłość, obecność w oku sztucznej soczewki bez filtra chroniącego przed światłem niebieskim, jasny kolor tęczęwek. Wszystkie te czynniki mogą prowadzić do wzmożenia stresu oksydacyjnego na poziomie siatkówki [50,56,62,63].

Patogeneza AMD jest wciąż niepewna. Uważa się, że istotną rolę w rozwoju choroby odgrywa proces starzenia się komórek nabłonka barwnikowego i błony Brucha, zaburzenia przepływu krwi w błonie naczyniowej oka, uszkadzające działanie widma światła niebieskiego oraz predyspozycja genetyczna. Wielu autorów uważa jednak, że najważniejszym mechanizmem w patogenezie zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem jest stres oksydacyjny [6,36].

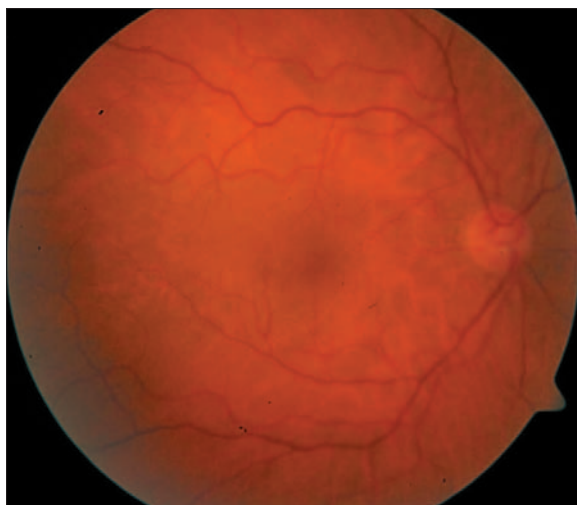
STRES OKSYDACYJNY A SIATKÓWKA

Według wolnorodnikowej teorii starzenia, sformułowanej w 1956 r. przez Denhama Harmana, proces starzenia się organizmów jest wynikiem kumulacji w ich komórkach uszkodzeń wywołanych przez reaktywne formy tlenu (RFT) [5]. Badania dowodzą, że procesy oksydacyjne przyspieszają starzenie się organizmu oraz odgrywają istotną rolę w patogenezie wielu chorób, m.in. zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem. Wiek pozostaje najważniejszym czynnikiem ryzyka AMD [36,60].

Stres oksydacyjny definiuje się jako zaburzenie komórkowej równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej w kierunku reakcji utleniania, przebiegające z udziałem reaktywnych form tlenu [5].

Istnieje kilka czynników przyczyniających się do powstania stresu oksydacyjnego na poziomie siatkówki. Schematyczny przekrój zewnętrznych warstw siatkówki okolicy plamki przedstawiono na rycinie 4.

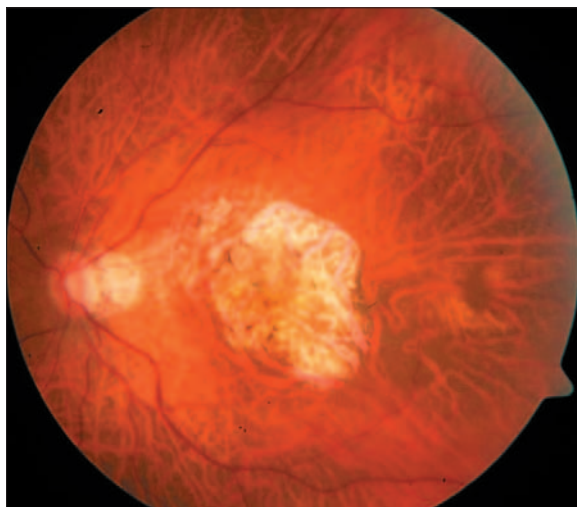
Generowaniu reaktywnych form tlenu (RFT) sprzyja to, że siatkówka należy do tkanek o najbardziej intensywnym metabolizmie tlenowym w organizmie człowieka. Liczne



Ryc. 1. Prawidłowy obraz dna oka



Ryc. 3. Wysiękowa postać zwyrodnienia plamki związanej z wiekiem



Ryc. 2. Sucha postać zwyrodnienia plamki związanej z wiekiem

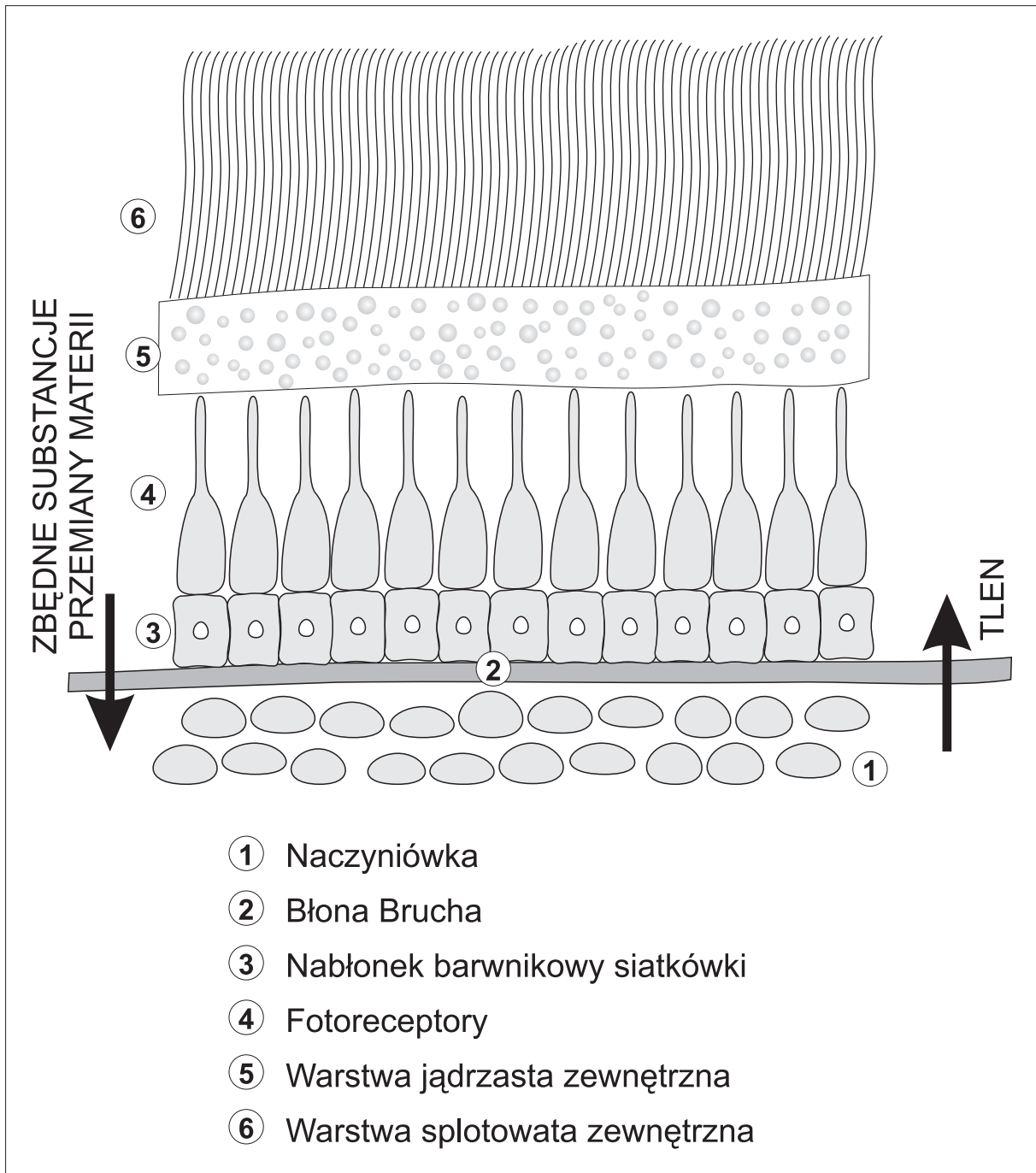
mitochondria umiejscowione w wewnętrznych segmentach fotoreceptorów są źródłem RFT powstających jako produkty uboczne w procesie oddychania komórkowego. Źródłem tlenu siatkówki jest głównie naczyniówka oraz naczynia siatkówkowe. Badania eksperymentalne dowodzą, że największe stężenie tlenu występuje na poziomie naczyniówki oraz w zewnętrznych częściach siatkówki i w tym rejonie jest ono prawie siedmiokrotnie większe w porównaniu z innymi tkankami (z wyjątkiem gruczołów nadnerczowych). Siatkówka jest poddawana ciągłemu działaniu światła widzialnego zawierającego m.in. wysokoenergetyczne, krótkofalowe widmo niebieskie, które indukuje powstanie RFT (anionorodnika nadtlenkowego, nadtlenku wodoru, rodnika hydroksylowego) [30,54,65,66].

Duża zawartość wielonienasyconych, długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (PUFA) – szczególnie kwasu dokozaheksaenowego (DHA), stanowiącego 50% wszystkich PUFA zawartych w segmentach zewnętrznych fotoreceptorów – sprzyja inicjowaniu łańcuchowych reakcji wolnorodnikowych prowadzących do powstania nadtlenków lipidów w procesie autooksydacji. Następstwem tego jest

utrata funkcji i integralności błony komórkowej fotoreceptorów i śmierć komórki [2,6].

Obecność chromoforów (fotouczulaczy) w siatkówce oraz w nabłonku barwnikowym (RPE) indukuje reakcje fotochemiczne, w których pośredniczą RFT. Następstwem tych reakcji jest uszkodzenie komórek nabłonka barwnikowego i siatkówki. Rolę fotosensybilizatorów siatkówkowych pełnią rodopsyna i enzym mitochondrialny – oksydaza cytochromowa. Głównym fotouczulaczem na poziomie nabłonka barwnikowego jest lipofuscyna uważana za „marker starzenia się komórek”. Jest to produkt niekompletnej degradacji segmentów zewnętrznych fotoreceptorów pochodzących z fagocytarnej aktywności komórek RPE. Kumulowana jest w cytoplazmie, w żółtobrązowych ziarnistościach wykazujących cechy autofluorescencji w świetle niebieskim [22]. Gromadzeniu LF w komórkach nabłonka barwnikowego sprzyja środowisko o dużej zawartości tlenu oraz ekspozycja na światło krótkofalowe, natomiast obecność melaniny i/lub antyoksydantów (luteiny, zeaksantyny, likopenu, tokoferolu) opóźnia kumulowanie tego barwnika [52,58]. Wzrost zawartości lipofuscyny w komórkach nabłonka barwnikowego prowadzący do zmniejszenia wolnej przestrzeni cytoplazmatycznej skutkuje zaburzeniem czynności tych komórek. Akumulacja ta jest szczególnie wyraźna w komórkach nabłonka barwnikowego okolicy plamki. Flood i wsp. w badaniach *in vitro* wykazali gorszą zdolność proliferacji, a Boulton i Marshal większą utratę aktywności metabolicznej komórek RPE pochodzących z okolicy plamki w porównaniu z komórkami obwodowych obszarów siatkówki. Według Nilssona i wsp. komórki obciążone LF wykazują zmniejszoną aktywność fagocytarną w stosunku do zewnętrznych segmentów fotoreceptorów [14,22,25,37,49,52,58].

Lipofuscyna działa również jako fotosensibilizator i bierze udział w generowaniu reaktywnych form tlenu (tlenu singletowego, anionorodnika ponadtlenkowego, nadtlenku wodoru) oraz potęguje proces peroksydacji lipidów błonowych. Według niektórych autorów poprzez te mechanizmy LF może odgrywać istotną rolę w rozwoju zwyrodnienia plamki związanej z wiekiem [54,58]. Cząsteczka LF zawiera 10 fluoroforów. Głównym i najlepiej poznanym hy-



Ryc. 4. Schematyczny przekrój zewnętrznych warstw siatkówki okolicy plamki

drofobowym fluoroforem lipofuscyny jest A2-E (N-retinylidene-N-retinylethanolamin). A2-E w mechanizmie dysfunkcji lizosomalnej nasila procesy prowadzące do śmierci komórek RPE (apoptozy), przez co, wg Holza i Schütta, może uczestniczyć w patogenezie AMD [22,33,37,59]. Hydrofobowy fluorofor LF, blokując ATP-zależną pompę protonową, doprowadza do wzrostu pH w przestrzeni wewnątrz lizosomu oraz do inhibicji enzymów lizosomalnych. Wysoki (krytyczny) poziom A2-E w komórce doprowadza do dezintegracji błon organelli komórkowych (lizosomy, mitochondria) oraz do ich rozerwania, co indukuje proces apoptozy [33,52].

Rolę fotouczulaczy mogą odgrywać również krwiopochodne chromofory, np. protoporfiryna IX, która po napromienianiu światłem niebieskim jest źródłem tlenu singletowego i anionorodnika ponadtlennkowego, niektóre leki np. fenotiazyny, psoraleny, allopurinol oraz tetracykliny [2,6,36,65].

Duża aktywność fagocytarna komórek nabłonka barwnikowego siatkówki (retinal pigment epithelium – RPE) w stosunku do zewnętrznych segmentów fotoreceptorów jest również źródłem stresu oksydacyjnego – tzw. wybuchu oddechowego (respiratory burst). Pobudzone fagocyty

a)	$O_2 \xrightarrow{h\nu} {}^1O_2$	– tlen singletowy
b)	$O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\bullet -}$	– anionorodnik ponadtlenkowy
c)	$O_2 + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2$	– nadtlenek wodoru
d)	$O_2^{\bullet -} + e^- + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2$	– nadtlenek wodoru
e)	$H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH^-$	– rodnik hydroksylowy (reakcja Fentona)

Ryc. 5. Biochemiczne podstawy powstawania reaktywnych form tlenu: tlenu singletowego, nadtlenku wodoru, wolnych rodników (anionorodnika nadtlenkowego, rodnika hydroksylowego); e⁻ – elektron, • – niesparowany elektron na zewnętrznej orbicie, OH⁻ – anion wodorotlenowy, hv – energia fotonu

(komórki RPE) wydzielają do przestrzeni zewnątrzkomórkowej duże ilości anionorodnika ponadtlenkowego, który w reakcji dysmutacji daje nadtlenek wodoru [2,5,65,67].

BIOCHEMICZNE PODSTAWY POWSTAWANIA REAKTYWNYCH FORM TLENU

Reaktywne formy tlenu mogą powstawać *in vivo* jako produkty uboczne metabolizmu komórkowego (np. w mitochondrium, w przebiegu łańcucha oddechowego) oraz jako rezultat reakcji fotochemicznych [67]. Wzmoczone wytwarzanie reaktywnych form tlenu w tkankach występuje pod wpływem zwiększonego ciśnienia parcjalnego tlenu, ekspozycji na promieniowanie jonizujące, zanieczyszczenie powietrza (O₃, NO₂) i dym papierosowy oraz w procesach zapalnych i w kontakcie z pobudzonymi fagocytami [5,6]. Reaktywne formy tlenu to pojęcie obejmujące wolne rodniki oraz tlen singletowy i nadtlenek wodoru. Wolny rodnik to atom lub cząsteczka zdolna do samodzielnego istnienia, mająca jeden lub więcej niesparowanych elektronów na orbicie walencyjnej. Wolne rodniki charakteryzują się dużą reaktywnością i szybko wchodzi w reakcje z wieloma różnymi cząsteczkami przez pozbycie się pojedynczego elektronu lub przyłączenia drugiego elektronu od innej cząsteczki [5,6,65,67].

Podstawowym stanem tlenu jest stan tripletowy (O₂). W tym stanie cząsteczka tlenu jest stosunkowo mało reaktywna, gdyż do całkowitej redukcji wymaga przyłączenia czterech elektronów. Bardziej reaktywną formą jest tlen w stanie singletowym (¹O₂). Powstaje on w wyniku wzbudzenia tripletowej cząsteczki tlenu przez zaabsorbowanie kwantu promieniowania o dużej energii i krótkiej fali (ryc. 5a). Tlen singletowy, oddziałując z innymi cząsteczkami, uszkadza je i ponownie przechodzi w stan tripletowy. Tlen tripletowy może ulegać jednoelektrodowej redukcji (przyjmuje od nich jeden elektron). Produktem tej reakcji jest wolny rodnik – anionorodnik ponadtlenkowy (O₂^{•-}) (ryc. 5b). Przyłączenie dwóch elektronów (oraz dwóch protonów) do cząsteczki tlenu lub jednego elektronu (i dwóch protonów) do anionorodnika ponadtlenkowego daje nadtlenek wodoru (H₂O₂) (ryc. 5c i 5d). Nadtlenek wodoru jest mało aktywny w porównaniu z wolnymi rodnikami tlenowymi, ale łatwo przenika przez błony komórkowe i w reakcji Fentona może generować rodniki hydroksylowe (OH[•]) (ryc. 5e). Rodnik hydroksylowy (OH[•]) jest produktem trój-

elektronowej redukcji cząsteczki tlenu i jest to najbardziej reaktywna forma tlenu. Charakteryzuje ją najkrótszy czas półtrwania oraz największa reaktywność spośród wolnych rodników [5,6,24,65,67].

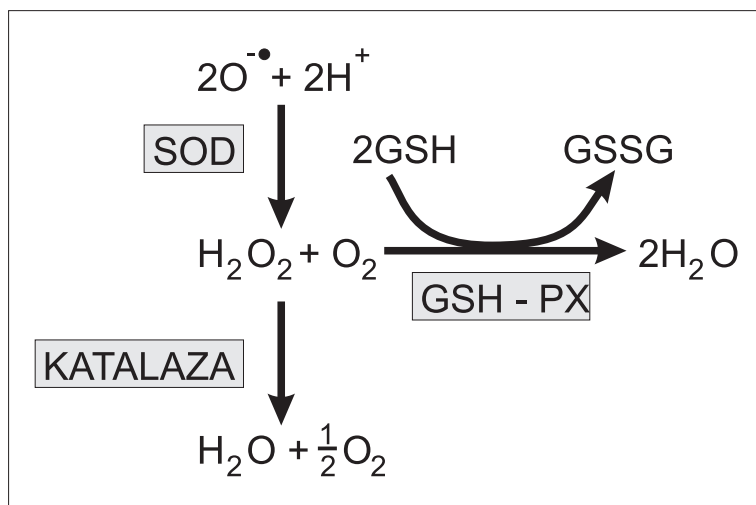
BIOLOGICZNE NASTĘPSTWA AKTYWNOŚCI REAKTYWNYCH FORM TLENU W KOMÓRCIE

Konsekwencją działania reaktywnych form tlenu w organizmie jest uszkodzenie składników komórkowych, tj. lipidów błonowych, białek, węglowodanów oraz kwasów nukleinowych.

Najbardziej znanym łańcuchowym procesem wolnorodnikowym jest peroksydacja lipidów (autooksydacja). Inicjatorem autooksydacji są m.in. wolne rodniki tlenowe. Jest to proces utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych (najczęściej wielonienasyconych, PUFA) lub innych lipidów, w którym powstają nadtenki tych związków oraz reaktywne wolne rodniki organiczne. Rodniki te, dążąc do sparowania elektronów, reagują z następnymi nienasyconymi kwasami tłuszczowymi i powodują powstanie cytotoksycznej, kaskadowej reakcji wolnorodnikowej. Biologicznym skutkiem peroksydacji fosfolipidów błonowych jest zmiana właściwości fizycznych błon komórkowych. Obniżenie hydrofobowości błony, wzrost przepuszczalności dla jonów wodoru, zmiany potencjałów błonowych oraz zahamowanie aktywności białek transportujących prowadzą do utraty integralności błon wewnątrzkomórkowych i błony cytoplazmatycznej, a następnie do śmierci komórki [5,24,67].

Uszkodzenia białek przez RFT mogą dotyczyć zarówno białek strukturalnych, jak i enzymatycznych. Reakcje RFT z białkami prowadzą do utleniania reszt aminokwasowych, grup prostetycznych oraz agregacji i fragmentacji cząsteczek białkowych. Oksydacyjne uszkodzenie białek powoduje utratę aktywności biologicznej białka. Najczęściej dochodzi do tego w wyniku aktywności rodnika hydroksylowego [5,67].

RFT w reakcji z cukrowcami, np. kwasem hialuronowym, rozrywają wiązania glikozydowe, co prowadzi do depolimeryzacji wielocukru. Skutkiem tego jest np. zmiana właściwości fizykochemicznych roztworów zawierających ten kwas. Uszkodzenie reszt cukrowych glikolipidów i glikoprotein na powierzchni komórek powoduje zmianę właściwości antygenowych tych cząsteczek, a tym samym komó-



Ryc. 6. Podstawowe enzymy usuwające reaktywne formy tlenu w komórkach; SOD – dysmutaza ponadtlenkowa, GSH-PX – peroksydaza glutationowa, GSH – glutation, GSSG – disulfid glutationu (utleniona forma glutationu)

rek, co może indukować wytworzenie przeciwciał przeciw własnym komórkom organizmu [5,29,67].

Najbardziej reaktywny rodnik hydroksylowy oraz tlen singletowy mogą reagować z kwasami nukleinowymi. Powodują one uszkodzenie zasad purynowych i pirymidynowych, reszt rybozy i deoksyrybozy oraz rozerwanie wiązań łączących nukleotydy, czyli pęknięcie nici DNA lub RNA. Mutacje DNA prowadzą do gromadzenia się nieprawidłowych białek w komórkach [5,15,67].

ANTYOKSYDACYJNE MECHANIZMY OBRONNE SIATKÓWKI

Aktywność RFT w organizmach żywych przyczyniła się do wykształcenia w procesie ewolucji licznych mechanizmów obronnych, również w siatkówce. Ich zadaniem jest utrzymanie komórkowej homeostazy w procesach oksydacyjno-redukcyjnych. W komórkach nabłonka barwnikowego oraz fotoreceptorach stwierdzono obecność białek enzymatycznych rozkładających RFT. Do enzymów tych należą: dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza oraz peroksydaza glutationowa [2,3,4,53].

Dysmutaza ponadtlenkowa

Dysmutaza ponadtlenkowa katalizuje reakcję dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego do nadtlenu wodoru, który w dalszej kolejności, z udziałem katalazy lub peroksydazy, jest przekształcany do wody (i O_2 w wypadku katalazy). W organizmie człowieka występują trzy rodzaje dysmutaz: cytoplazmatyczna dysmutaza ponadtlenkowa zawierająca miedź i cynk (Cu-ZnSOD lub SOD-1), mitochondrialna, zawierająca mangan (MnSOD lub SOD-2) oraz zewnątrzkomórkowa (ECSOD lub SOD-3) [5,67].

Delacourt i wsp. w badaniu POLA nie stwierdzili zależności między aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej we krwi a występowaniem zwyrodnienia plamki związaneego z wiekiem. Także badania prowadzone przez Liles i wsp., dotyczące aktywności SOD w komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki, nie wykazały istotnych różnic w aktywności tego enzymu w oczach zdrowych w porównaniu z oczami z AMD, a także nie dowiodły zmian aktywności enzymu z wiekiem [20,44].

Katalaza

Katalaza jest hemoproteiną zawierającą cztery grupy hemowe. Wykazuje aktywność peroksydazową i rozkłada nadtlenek wodoru [67]. Badania wykazały, że aktywność katalazy w obrębie nabłonka barwnikowego jest istotnie mniejsza w oczach z zaawansowanym AMD w porównaniu z oczami zdrowymi, oraz że obniża się ona z wiekiem [26]. Podobne wyniki badań uzyskali De La Paz i wsp., którzy badali aktywność katalazy w homogenatach siatkówek małych z początkowym stadiem zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem [18]. Nie wykazali oni natomiast istotnych różnic aktywności katalazy w erytrocytach u pacjentów z AMD w porównaniu z osobami zdrowymi [19].

Peroksydaza glutationowa

Kolejnym enzymem działającym antyoksydacyjnie w komórkach siatkówki jest peroksydaza glutationowa (GSH-Px). Jest to enzym wysoce swoisty pod względem donora elektronów, gdyż do redukcji nadtlenu wodoru (H_2O_2) lub nadtlenuków organicznych (ROOH) wymaga wyłącznie zredukowanego glutationu (GSH). Ten selenozależny enzym katalizuje reakcję między glutationem (GSH) a nadtlenukiem wodoru (lub nadtlenukiem organicznym ROOH), w wyniku której powstaje utleniona postać glutationu (disulfid glutationu, GSSG) i woda (lub ROH). W przypadku redukcji organicznego nadtlenu lipidu, GSH-Px hamuje również proces peroksydacji lipidów [67].

Obecność GSH oraz aktywność GSH-Px stwierdzono w zewnętrznych segmentach fotoreceptorów oraz w komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki [2,3]. W badaniach POLA prowadzonych przez Delacourta i wsp. wykazano istotnie mniejsze stężenia glutationu w erytrocytach wśród pacjentów z AMD w porównaniu z osobami zdrowymi. Ci sami badacze ujawnili silną negatywną korelację między osoczną aktywnością peroksydazy glutationowej a występowaniem zaawansowanych postaci AMD [20,21]. Jednak nadal dyskusyjny pozostaje udział GSH-Px oraz GSH w patogenezie AMD, gdyż inni badacze nie uzyskali tak jednoznacznych wyników jak Delacourt. Samiec i wsp. stwierdzili wprawdzie istotne obniżenie osocze-

go stężenia glutationu z wiekiem, jednak w grupie pacjentów z AMD nie różnił się istotnie w porównaniu z osobami zdrowymi [55]. Rycina 6 przedstawia opisane powyżej komórkowe mechanizmy enzymatyczne o działaniu antyoksydacyjnym.

W rozważaniach nad mechanizmami obronnymi komórek nie sposób pominąć roli witamin C, E, A, karotenoidów oraz mikroelementów: cynku i seleniu. Organizm człowieka nie ma zdolności syntetyzowania wymienionych związków i mikroelementów. Są one jedynie pochodzenia dietetycznego. Już w latach siedemdziesiątych ub.w. w badaniu NHANES-I, jednym z pierwszych dużych badań nad czynnikami ryzyka AMD, obejmującym około 10 tys. osób, wykazano, że spożywanie dużych ilości owoców i warzyw bogatych w witaminy A i C chroni przed zachorowaniem na AMD [28].

Witamina C

Hydrofilowa witamina C (kwas askorbinowy) wykazuje silne właściwości redukujące, szczególnie w środowisku wodnym. Jej antyoksydacyjne działanie polega na „zmiataniu” wolnych rodników, głównie anionorodnika ponadtlenkowego, rodnika hydroksylogowego oraz na usuwaniu nadtlenu lipidów, nadtlenu wodoru i tlenu singletowego. Witamina C występuje jako kofaktor wielu systemów enzymatycznych. Dodatkowo kwas askorbinowy przywraca właściwości antyoksydacyjne witaminie E, redukując jej utlenioną postać. Stężenie kwasu askorbinowego w tkankach oka jest kilkakrotnie wyższe ($1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) w porównaniu z innymi tkankami organizmu człowieka (np.: w wątrobie, nerkach, śledzionie, płucach przeciętne stężenie wynosi około $100\text{--}800 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) [2,5,27,67]. W badaniach EDCCS and POLA Study nie potwierdzono związku między stężeniem kwasu askorbinowego w osoczu krwi a zwyrodnieniem plamki związanym z wiekiem [21,61].

Witamina E

Witamina E jest głównym antyoksydantem rozpuszczalnym w lipidach. Jest umiejscowiona głównie w błonach komórkowych oraz lipoproteinach osocza. Na witaminę E składa się osiem różnych izomerów tokoferoli [5]. Wśród nich związkiem najpowszechniej występującym i najlepiej poznanym jest α -tokoferol. Stanowi on prawie 90% osoczowej witaminy E oraz jest dominującym tokoferolem w siatkówce. Antyoksydacyjne działanie tokoferolu polega głównie na zmiataniu wtórnych wolnych rodników organicznych i terminacji peroksydacji lipidów. Witamina E jest również efektywnym wygaszaczem tlenu singletowego. W siatkówce największe ilości witaminy E znajdują się w komórkach nabłonka barwnikowego oraz w fotoreceptorach, gdzie są umiejscowione głównie w ich zewnętrznych segmentach. Do szóstej dekady życia zawartość tokoferoli w siatkówce zwiększa się z wiekiem, a następnie obniża się u osób starszych. Badania eksperymentalne na zwierzętach dowiodły, że mała zawartość witaminy E w siatkówce skutkuje zwiększonym gromadzeniem lipofuscyne w komórkach RPE, większą wrażliwością siatkówki na fotooksydacyjne uszkodzenia, zaś duża zawartość tokoferoli skutecznie ogranicza uszkodzenie błon komórkowych w procesie autooksydacji [5,6,27,65,67]. West i wsp. wykazali, że duże stężenie witaminy E w osoczu

krwi redukuje o 60% ryzyko starczej degeneracji plamki [64]. Ochronną rolę dużego stężenia α -tokoferolu w osoczu (w stosunku do wczesnych jak i późnych postaci AMD) potwierdzili w badaniach POLA Study Delacourt i wsp. [21]. Odmienne wyniki uzyskali Mares-Perlman i wsp. W Beaver Dam Eye Study nie dowiedli negatywnej korelacji między stężeniem tokoferolu w surowicy krwi a występowaniem AMD [46]. W badaniu EDCCS również nie potwierdzono ochronnego wpływu dużego stężenia witaminy E w osoczu krwi [61].

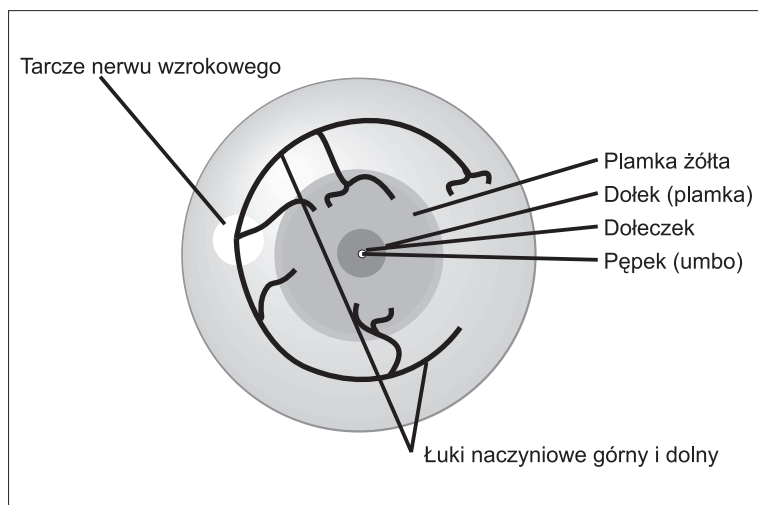
Witamina A

Witamina A w postaci retinolu zawartego w błonach zewnętrznych segmentów fotoreceptorów chroni fosfolipidy błonowe przed utlenieniem oraz uczestniczy w odnowie błon komórkowych uszkodzonych w procesie peroksydacji lipidów [6]. W POLA Study nie potwierdzono związku między stężeniem retinolu w osoczu krwi a występowaniem AMD [21].

Cynk i selen

Niedobór pierwiastków śladowych, jakimi są selen i cynk, również może upośledzać obronę antyoksydacyjną siatkówki, przez osłabienie aktywności enzymów zależnych od tych pierwiastków (dysmutaza ponadtlenkowa i peroksydaza glutationowa) [6,67]. Ponadto cynk wykazuje bezpośrednie działanie antyoksydacyjne w komórkach nabłonka barwnikowego i współdziała z dehydrogenazą retinolu, która odpowiada za odtworzenie retinalu uczestniczącego w cyklu pigmentu wzrokowego. Dotychczas przeprowadzono kilka badań nad zawartością cynku w diecie i surowicy jako czynnikiem ryzyka AMD. Niektóre z nich potwierdziły ochronną rolę suplementacji dietetycznej cynkiem przed wystąpieniem lub progresją AMD, inne natomiast nie wykazały zależności między tymi czynnikami. W badaniach prowadzonych na grupie 151 pacjentów z różnymi postaciami AMD, Newsome i wsp. wykazali korzystne działanie suplementacji 80 mg cynku dziennie przez okres dwóch lat. Utrata ostrości wzroku wśród osób przyjmujących cynk wystąpiła w przypadku 3,8% pacjentów w porównaniu z 10% pacjentów przyjmujących placebo [51]. Mares-Perlman i wsp. w badaniach Beaver Dam Eye Study również stwierdzili, że suplementacja cynku zmniejsza ryzyko rozwoju wczesnych postaci zwyrodnienia plamki, natomiast nie wpływa na stadia późniejsze [48]. Skuteczność cynku w zapobieganiu zaawansowanej postaci degeneracji plamki i spowolnieniu postępu choroby potwierdzono w badaniu AREDS. Pacjenci otrzymujący 80 mg cynku oraz 2 mg miedzi (cynk w większych stężeniach hamuje wchłanianie miedzi oraz zwiększa jej wydalanie, dlatego – aby nie dopuścić do niedoborów tego pierwiastka – do suplementacji cynku dodano miedź) obciążeni byli o 21% mniejszym ryzykiem rozwoju zaawansowanych postaci AMD w porównaniu z grupą otrzymującą placebo [1]. Z kolei w prospektywnych badaniach obejmujących dziesięcioletnią obserwacją grupy 66 572 kobiet i 37 636 mężczyzn nie wykazały zależności między cynkiem zawartym w diecie lub suplementowanym w tabletkach a zmniejszonym ryzykiem zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem [1,17,48,51].

Kliniczne badania EDCCS, analizujące zależność między stężeniem śladowych substancji o działaniu antyoksydacyj-



Ryc. 7. Schemat dna oka obrazujący umiejscowienie barwnika plamki

nym we krwi a występowaniem zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem, nie wykazały związku między stężeniem poszczególnych antyoksydantów (witamin E, C oraz selenu) z AMD. W badaniach tych odnotowano natomiast redukcję ryzyka neowaskularnej postaci AMD u osób z wysokim indeksem antyoksydacyjnym we krwi. Za indeks antyoksydacyjny przyjęto sumaryczne stężenie karotenoidów (luteiny, zeaksantyny, α - i β -karotenu, kryptoksantyny, likopenu), witaminy C, E oraz selenu. Duże stężenie samych karotenoidów okazało się również czynnikiem ochronnym przed wystąpieniem starczego zwyrodnienia plamki [61].

Karotenoidy

Karotenoidy to barwniki syntetyzowane w organizmach roślinnych oraz bakteriach. W organizmie ludzkim są pochodzenia wyłącznie dietetycznego. Wśród nich wyróżnić można dwie grupy: pochodne ksantofilowe (hydroxy-carotenoids, xanthophylls), tj. luteina, zeaksantyna i kryptoksantyna wykazujące bardziej polarne właściwości w porównaniu z drugą grupą węglowodorów (hydrocarbon-carotenoids), do której zaliczają się m.in. α - i β -karoten oraz likopen. Ksantofile, w odróżnieniu od α - i β -karotenu nie są prekursorami prowitaminy A [41,45].

Zwyrodnienie plamki związane z wiekiem dotyczy centralnej części (tylnego bieguna) siatkówki, miejsca, które chronione jest przez naturalną barierę – barwnik plamki (macular pigment – MP). Schemat dna oka i umiejscowienie barwnika plamki (plamka żółta) przedstawiono na rycinie 7.

W skład barwnika plamki wchodzi dwa karotenoidy – luteina i zeaksantyna. Największą gęstość MP osiąga w dołeczku. W kierunku obwodowym gęstość optyczna barwnika plamki zmniejsza się. Rozmieszczenie luteiny i zeaksantyny w siatkówce różni się – w centrum dominującym karotenoidem jest zeaksantyna, w bardziej obwodowych częściach – luteina [10,11,12,13,16,32,42].

Przedreceptorowe umiejscowienie barwnika plamki umożliwia mu spełnianie roli filtra, który absorbuje rodnikogenne promieniowanie krótkofalowe (światło niebieskie), ograniczając w ten sposób procesy fotooksydacyjne, które prowadzą do uszkodzenia tkanek siatkówki [30,35,42].

W wyniku absorpcji światła przez endogenny lub egzogeny fotosensibilizator powstaje bardziej reaktywna wzbudzona postać fotouczulacza, która bierze udział w generowaniu reaktywnych form tlenu. Ochronne działanie karotenoidów polega na prewencji, czyli niedopuszczeniu do reakcji RFT ze związkami podatnymi na ich działanie (np. fosfolipidami błony komórkowej). Aktywność ta wyraża się wygaszaniem tripletowego (wzbudzonego) stanu fotosensybilizatora oraz inaktywacją tlenu singletowego. Ponadto karotenoidy uczestniczą w terminacji łańcucha reakcji wolnorodnikowej poprzez „zmiatanie” wolnych rodników tlenowych. Reagując z wolnymi rodnikami organicznymi powstającymi w procesie utleniania lipidów, opóźniają peroksydację lipidów błonowych. Karotenoidy są skutecznymi antyoksydantami przy małych stężeniach tlenu. Uzupełniają one antyoksydacyjne właściwości tokoferolu, uzyskującego maksymalne działanie antyoksydacyjne w środowisku o dużych stężeniach O_2 [42,45].

W oczach ze starczym zwyrodnieniem plamki wykazano zredukowaną gęstość optyczną MP oraz mniejsze stężenia luteiny i zeaksantyny w porównaniu z oczami zdrowymi. Wśród pacjentów z rozpoznaniem AMD tylko w jednym oku stwierdzono istotnie mniejszą gęstość barwnika plamki również w drugim oku, potencjalnie zdrowym [7,8,13]. Liczne badania wykazały, że suplementacja luteiny i zeaksantyny z pokarmami zwiększa stężenie obu karotenoidów w osoczu krwi a następnie w tkankach, również w siatkówce, przez co zwiększa się gęstość optyczna MP [10,23,31,34,43]. Zwiększanie gęstości barwnika plamki umożliwia lepszą ochronę siatkówki i pozwala wysunąć hipotezę, że wzrost zawartości luteiny i zeaksantyny w diecie i w osoczu krwi, może zmniejszać ryzyko wystąpienia zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem lub złagodzić przebieg choroby. Seddon i wsp. wykazali, że wzrost zawartości karotenoidów w diecie (łącznie stężenia luteiny i zeaksantyny) redukuje o 43% ryzyko wystąpienia wysiękowej postaci AMD. Z kolei Mares-Perlmann w NHANES III wykazała, że duża zawartość luteiny i zeaksantyny w diecie zmniejsza ryzyko zarówno wczesnych, jak i późnych postaci AMD, ale tylko w grupie pacjentów w wieku 40–79 lat [47,57].

W odróżnieniu od EDCCS, badania BDES nie potwierdziły korzystnego działania dużego stężenia karotenoidów we

krwi w zapobieganiu wystąpieniu lub progresji starczego zwyrodnienia plamki [47,61].

Niespójność danych pochodzących z badań nad rolą antyoksydantów w zwyrodnieniu plamki związanym z wiekiem nie pozwala jednoznacznie określić ich wpływu na rozwój AMD. Jedyną metodą racjonalnej oceny wpływu wybranych czynników na rozwój choroby są duże, prospektywne badania randomizowane. W latach dziewięćdziesiątych ub.w. National Eye Institute w Stanach Zjednoczonych podjął się przeprowadzenia największego, najdłuższego i wielośrodowego programu badawczego AREDS (Age-related Eye Disease Study Research Group) w celu zbadania skuteczności wybranych antyoksydantów w zapobieganiu i leczeniu AMD. Powszechnie uważa się, że AREDS mają największą wartość naukową z przeprowadzonych dotychczas badań. Były to randomizowane, podwójnie ślepe badania kliniczne, z grupą kontrolną, której podawano placebo. Badaniem objęto 1117 osób zdrowych, bez oznak AMD, oraz 3640 pacjentów z objawami AMD o różnym stopniu zaawansowania. Okres analizy wynosił 5–10 lat (średnio 6,3 roku). Pacjenci zakwalifikowani do badań otrzymywali preparaty witaminy C, E, β -karotenu, cynku i miedzi w różnych konfiguracjach. Opublikowane w 2001 roku wyniki badań ujawniły istotny, korzystny wpływ dużych dawek antyutleniaczy na zahamowanie rozwoju AMD w porównaniu z grupą placebo. Wpływ ujawniał się najbardziej wśród pacjentów przyjmujących wszystkie antyoksydanty oraz cynk jednocześnie. Suplementacja antyutleniaczy bez cynku nieistotnie obniża-

ła ryzyko AMD. Badania AREDS wykazały, że duże dawki antyoksydantów zarówno w połączeniu z cynkiem, jak i bez cynku znamienne redukują ryzyko utraty wzroku. W programie badawczym AREDS nie ujęto suplementacji karotenoidów tworzących barwnik plamki – luteiny i zeaksantyny, a jedynie β -karoten, który nie wchodzi w skład MP. Dotąd nie opublikowano wyników dużych badań prospektywnych oceniających wpływ suplementacji luteiny i zeaksantyny na ryzyko starczego zwyrodnienia plamki [1].

PODSUMOWANIE

Patogeneza zwyrodnienia plamki związanego z wiekiem pozostaje wciąż niewyjaśniona i bardzo możliwe, że ma podłoże wieloczynnikowe istotnie różniące się w poszczególnych badanych populacjach. Stres oksydacyjny jest najprawdopodobniej jednym z najistotniejszych czynników patogenetycznych.

Wyniki części przedstawionych badań dowodzą, że wzmocnienie obrony antyoksydacyjnej organizmu przez suplementację kilku działających synergistycznie antyoksydantów na różnych poziomach (punktach uchwytu) zmniejsza ryzyko wystąpienia lub progresji AMD. Być może, aby działanie antyoksydantów skutecznie zapobiegało rozwojowi AMD konieczne jest spełnienie dodatkowych warunków związanych z trybem życia (np. zaprzestanie palenia papierosów, całokształt diety, wysiłek fizyczny). Ich poznanie powinno być celem dalszych badań.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Age-Related Eye Disease Study Research Group: A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS Report Number 8. *Arch. Ophthalmol.*, 2001; 119: 1417–1436
- [2] American Academy of Ophthalmology: Basic and Clinical Science Course. Fundamentals and Principles of Ophthalmology. Section 2, 2001–2002
- [3] Atalla L.R., Sevanian A., Rao N.A.: Immunohistochemical localization of glutathione peroxidase in ocular tissue. *Curr. Eye. Res.*, 1988; 7: 1023–1027
- [4] Atalla L.R., Sevanian A., Rao N.A.: Immunohistochemical localization of peroxidative enzymes in ocular tissue. *CLAO J.*, 1990; 16(Suppl.1): S30–S33
- [5] Bartosz G.: Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003
- [6] Beatty S., Koh H., Phil M., Henson D., Boulton M.: The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv. Ophthalmol.*, 2000; 45: 115–134
- [7] Beatty S., Murray I. J., Henson D. B., Carden D., Koh H., Boulton M.E.: Macular pigment and risk for age-related macular degeneration in subjects from a Northern European population. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2001; 42: 439–446
- [8] Bernstein P.S., Zhao D., Winth S., Ermakov I., McClane R., Gellermann W.: Resonance Raman measurement of macular carotenoids in normal subjects and in age-related macular degeneration patients. *Ophthalmology*, 2002; 109: 1780–1787
- [9] Bird A.C., Bressler N.M., Bressler S.B., Chisholm I.H., Coscas G., Davis M.D., de Jong P.T., Klaver C.C., Klein B.E., Klein R. et al.: International classification and grading system for age-related maculopathy and age-related degeneration. *Surv. Ophthalmol.*, 1995; 39: 367–374
- [10] Bone R.A., Landrum J.T., Dixon Z., Chen Y., Llerena C.M.: Lutein and zeaxanthin in the eyes, serum and diet of human subjects. *Exp. Eye Res.*, 2000; 71: 239–245
- [11] Bone R.A., Landrum J.T., Fernandez L., Tarsis S.L.: Analysis of the macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1988; 29: 843–849
- [12] Bone R.A., Landrum J.T., Friedes L.M., Gomez C.M., Kilburn M.D., Mendez E., Vidal I., Wang W.: Distribution of lutein and zeaxanthin stereoisomers in the human retina. *Exp. Eye Res.*, 1997; 64: 211–218
- [13] Bone R.A., Landrum J.T., Mayne S.T., Gomez C.M., Tibor S.E., Twarowska E.E.: Macular pigment in donor eyes with and without AMD: a case-control study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2001; 42: 235–240
- [14] Boulton M., Marshall J.: Effects of increasing numbers of phagocytic inclusions on human retinal pigment epithelial cells in culture: a model of aging. *Br. J. Ophthalmol.*, 1986; 70: 808–815
- [15] Cai J., Wu M., Nelson K.C., Sternberg P., Jones D.P.: Oxidant-induced apoptosis in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1999; 40: 959–966
- [16] Carroll Y.L., Corridan B.M., Morrissey P.A.: Carotenoids in young and elderly healthy humans: dietary intakes, biochemical status, and diet-plasma relationships. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 1999; 53: 644–653
- [17] Cho E., Stampfer M.J., Seddon J.M., Hung S., Spiegelman D., Rimm E.B., Willett W.C., Hankinson S.E.: Prospective study of zinc intake and the risk of age-related macular degeneration. *Ann. Epidemiol.*, 2001; 11: 328–336
- [18] De La Paz M.A., Zhang J., Fridovich I.: Antioxidant enzymes of the human retina: effect of age on enzyme activity of macula and periphery. *Curr. Eye. Res.*, 1996; 15: 273–278
- [19] De La Paz M.A., Zhang J., Fridovich I.: Red blood cell antioxidant enzymes in age-related macular degeneration. *Br. J. Ophthalmol.*, 1996; 80: 445–450
- [20] Delacourt C., Cristol J.P., Leger C.L., Descomps B., Papoz J.: Associations of antioxidant enzymes with cataract and age-related macular degeneration. The POLA Study. *Pathologies Oculaires Liees a l'Age. Ophthalmology*, 1999; 106: 215–222
- [21] Delacourt C., Cristol J.P., Tessier F., Leger C.L., Descomps B., Papoz L.: Age-related macular degeneration and antioxidant status in the POLA study. POLA Study Group. *Arch. Ophthalmol.*, 1999; 117: 1384–1390

- [22] Eldred G.E., Miller G.V., Stark W.S., Feeney-Burns L.: Lipofuscin. Resolution of discrepant fluorescence data. *Science*, 1982; 216: 757–759
- [23] Falsini B., Piccardi M., Iarossi G., Fadda A., Merendino E., Valentini P.: Influence of short-term antioxidant supplementation on macular function in age-related maculopathy: a pilot study including electrophysiologic assessment. *Ophthalmology*, 2003; 110: 51–61
- [24] Feeney L., Berman E.R.: Oxygen toxicity: membrane damage by free radicals. *Invest. Ophthalmol.*, 1976; 15: 789–792
- [25] Feeney-Burns L., Hilderbrand E.S., Eldridge S.: Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1984; 25: 195–200
- [26] Frank R.N., Amin R.H., Puklin J.E.: Antioxidant enzymes in the macular retinal pigment epithelium of eyes with neovascular age-related macular degeneration. *Am. J. Ophthalmol.*, 1999; 127: 694–709
- [27] Gerster H.: Review: antioxidant protection of ageing macula. *Age Ageing*, 1991; 20: 60–69
- [28] Goldberg J., Flowerdew G., Smith E., Brody J.A., Tso M.O.: Factors associated with age-related macular degeneration. An analysis of data from the first National Health and Nutrition Examination Survey. *Am. J. Epidemiol.*, 1988; 128: 700–710
- [29] Gurne D.H., Tso M.O., Edward D.P., Ripps H.: Antiretinal antibodies in serum of patients with age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, 1991; 98: 602–607
- [30] Haegerstrom-Portnoy G.: Short-wavelength-sensitive-cone sensitivity loss with aging: a protective role for macular pigment? *J. Opt. Soc. Am. A.*, 1988; 5: 2140–2144
- [31] Hammond B.R.Jr, Johnson E.J., Russel R.M., Krinsky N. I., Yeum K.J., Edwards R.B., Snodderly D.M.: Dietary modification of human macular pigment density. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1997; 38: 1795–1801
- [32] Handelman G.J., Dratz E.A., Reay C.C., van Kuijk J.G.: Carotenoids in the human macula and whole retina. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1988; 29: 850–855
- [33] Holz F.G., Schutt F., Kopitz J., Eldred G.E., Kruse F.E., Volcker H.E., Cantz M.: Inhibition of lysosomal degradative functions in RPE cells by a retinoid component of lipofuscin. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1999; 40: 737–743
- [34] Johnson E.J., Hammond B.R., Yeum K.J., Qin J., Wang X.D., Castaneda C., Snodderly M., Russell R.M.: Relation among serum and tissue concentrations of lutein and zeaxanthin and macular pigment density. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2000; 71: 1555–1562
- [35] Junghans A., Sies H., Stahl W.: Macular pigments lutein and zeaxanthin as blue light filters studied in liposomes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2001; 391: 160–164
- [36] Kałużny J., Jurgowiak J.: Udział reaktywnych form tlenu w patogenezie wybranych chorób oczu. *Klinika Oczna*, 1996; 98: 145–149
- [37] Katz M.L., Rice L.M., Gao C.L.: Reversible accumulation of lipofuscin-like inclusions in the retinal pigment epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1990; 40: 175–181
- [38] Klein R., Davis M.D., Magli Y.L., Regal P., Klein B.E., Hubbard L.: The Wisconsin age-related maculopathy grading system. *Ophthalmology*, 1991; 98: 1128–1134
- [39] Klein R., Klein B.E., Linton K.L.: Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, 1992; 99: 933–943
- [40] Klein R., Wang Q., Klein B.E., Moss S.E., Meuer S.M.: The relationship of age-related maculopathy, cataract, and glaucoma to visual acuity. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1995; 36: 182–191
- [41] Krinsky N.I., Russett M.D., Handelman G.J., Snodderly D.M.: Structural and geometrical isomers of carotenoids in human plasma. *J. Nutr.*, 1990; 120: 1654–1662
- [42] Landrum J.T., Bone R.A.: Lutein, zeaxanthin, and macular pigment. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2001; 385: 28–40
- [43] Landrum J.T., Bone R.A., Joa H., Kilburn M.D., Moore L.L., Sprague K.E.: A one year study of the macular pigment: the effect of 140 days of a lutein supplement. *Exp. Eye Res.*, 1997; 65: 57–62
- [44] Liles M.R., Newsome D.A., Oliver P.D.: Antioxidant enzymes in the aging human retinal pigment epithelium. *Arch. Ophthalmol.*, 1991; 109: 1285–1288
- [45] Lim B.P., Nagao A., Terao J., Tanaka K., Suzuki T., Takama K.: Antioxidant activity of xanthophylls on peroxy radical-mediated phospholipid peroxidation. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1992; 1126: 178–184
- [46] Mares-Perlman J.A., Brady W.E., Klein R., Klein B.E., Bowen P., Stacewicz-Sapuntzakis M., Palta M.: Serum antioxidants and age-related macular degeneration in a population-based case-control study. *Arch. Ophthalmol.*, 1995; 113: 1518–1523
- [47] Mares-Perlman J.A., Fisher A.I., Klein R., Palta M., Block G., Millen A.E., Wright J.D.: Lutein and zeaxanthin in the diet and serum and their relation to age-related maculopathy in the third national health and nutrition examination survey. *Am. J. Epidemiol.*, 2001; 153: 424–432
- [48] Mares-Perlman J.A., Klein R., Klein B.E., Greger J.L., Brady W.E., Palta M., Ritter L.L.: Association of zinc and antioxidant nutrients with age-related maculopathy. *Arch. Ophthalmol.*, 1996; 114: 991–997
- [49] Marshall J.: The ageing retina: physiology and pathology. *Eye*, 1987; 1: 282–295
- [50] McCarty C.A., Mukesh B.N., Fu C.L., Mitchell P., Wang J.J., Taylor H.R.: Risk factors for age-related maculopathy: the Visual Impairment Project. *Arch. Ophthalmol.*, 2001; 119: 1445–1462
- [51] Newsome D.A., Swartz M., Leone N.C., Elston R.C., Miller E.: Oral zinc in macular degeneration. *Arch. Ophthalmol.*, 1988; 106: 192–198
- [52] Nilsson S.E., Sundelin S.P., Wihlmark U., Brunk U.T.: Aging of cultured retinal pigment epithelial cells: oxidative reactions, lipofuscin formation and blue-light damage. *Doc. Ophthalmol.*, 2003; 106: 13–16
- [53] Rao N.A., Thaete L.G., Delmage J.M., Sevastian A.: Superoxide dismutase in ocular structures. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1985; 26: 1778–1781
- [54] Rożanowska M., Jarvis-Evans J., Korytowski W., Boulton M.E., Burke J.M., Sarna T.: Blue-light induced reactivity of retinal age pigment. *In vitro* generation of oxygen-reactive species. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 18825–18830
- [55] Samiec P.S., Drews-Botsch C., Flagg E.W., Kurtz J.C., Sternberg P., Reed R.L., Jones 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
- [56] Sandberg M.A., Gaudio A.R., Miller S., Weiner A.: Iris pigmentation and extent of disease in patients with neovascular age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1994; 35: 2734–2740
- [57] Seddon J.M., Ajani U.A., Sperduto R.D., Hiller R., Blair N., Burton T.C., Farber M.D., Gragoudas E.S., Haller J., Miller D.T., Yannuzzi L.A., Willett W.: Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E and advanced age-related macular degeneration. *Eye Disease Case-Control Study Group. JAMA*, 1994; 272: 1413–1420
- [58] Sundelin S.P., Nilsson S.E.: Lipofuscin – formation in retinal pigment epithelial cells is reduced by antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.*, 2001; 3: 217–225
- [59] Taubold R.D.: Studies on chemical nature of lipofuscin (age pigment) isolated from normal human brain. *Lipids*, 1975; 10: 383–390
- [60] Taylor A., Jacques P.F., Dorey C.K.: Oxidation and aging: impact on vision. *J. Toxicol. Ind. Health*, 1993; 9: 349–371
- [61] The Eye Disease Case Control Study Group: Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. *Arch. Ophthalmol.*, 1993; 111: 104–109
- [62] Vingerling J.R., Hofman A., Grobbee D.E., de Jong P.T.: Age-related macular degeneration and smoking. The Rotterdam Study. *Arch. Ophthalmol.*, 1996; 114: 1193–1196
- [63] Vingerling J.R., Klaver C.C., Hofman A., de Jong P.T.: Cataract extraction and age-related macular degeneration: the Rotterdam Study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1997; 38: 472
- [64] West S., Vitale S., Hallfrisch J., Munoz B., Muller D., Bressler S., Bressler N.M.: Are antioxidants or supplements protective for age-related macular degeneration? *Arch. Ophthalmol.*, 1994; 112: 222–227
- [65] Winkler B.S., Boulton M.E., Gottsch J.D., Sternberg P.: Oxidative damage and age-related macular degeneration. *Mol. Vis.*, 1999; 5: 32
- [66] Young R.W.: Solar radiation and age-related macular degeneration. *Surv. Ophthalmol.*, 1988; 32: 252–269
- [67] Yu B.P.: Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol. Rev.*, 1994; 74: 139–162