

(16)

Wpływ inhibitora syntazy tlenu azotu (L-NAME) na ciśnienie śródgałkowe u szczurów w przebiegu zapalenia błony naczyniowej indukowanego endotoksyną

The influence of the nitric synthase inhibitor (L-NAME) on the intraocular pressure in endotoxin induced uveitis in rats

Stanisław Szymaniec¹, Marta Misiuk-Hojło²

¹ Z Zakładu Terapii Doświadczalnej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej Polskiej Akademii Nauk we Wrocławiu
Kierownik: dr. hab. n. med. Stanisław Szymaniec

² Z Kliniki i Katedry Okulistyki Akademii Medycznej we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Maria Hanna Niżankowska

Summary: We studied the influence of the nitric synthase inhibitor (L-NAME) on the induction of uveitis in Wistar rats. The inflammation was induced by a footpad injection of endotoxin in rat. The clinical signs were evaluated in a slit-lamp, the intraocular pressure was measured using Tono Pen tonometer. We showed, that in endotoxin-induced uveitis the intraocular pressure elevation was observed and that L-NAME application reduced the inflammation and the level of the intraocular pressure.

Słowa kluczowe: tlenek azotu, eksperymentalne zapalenie błony naczyniowej.

Key words: nitric oxide, experimental uveitis.

Doświadczalne zapalenie błony naczyniowej oka, wywołane u zwierząt przez wstrzyknięcie endotoksyny (EIU – *endotoxin induced uveitis*), jest często wykorzystywane jako układ modelowy do badania procesów zapalnych w oku u ludzi. Indukcja syntazy tlenu azotu (iNOS) może być ważnym etapem, obok aktywacji wielu cytokin, w promowaniu reakcji zapalnych.

Stwierdziliśmy, że w przebiegu EIU dochodzi do wzrostu ciśnienia śródgałkowego. Ponieważ podanie inhibitora syntazy tlenu azotu powoduje zmniejszenie objawów klinicznych zapalenia w oku, postanowiono zbadać jego wpływ na ciśnienie śródoczne u szczurów z indukowanym procesem zapalnym narządu wzroku (EIU).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 28 szczurach rasy Wistar, samicach o ciężarze 150-200 g, pochodzących z Ośrodka Hodowli Zwierząt Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN (IITD).

Endotoksynę – lipopolisacharyd (LPS) *Hafnia alvei* 981 – otrzymano od prof. Cz. Ługowskiego z Zakładu Immunochemii IITD. LPS rozpuszczono w soli fizjologicznej i wstrzykiwano szczurom podskórnym w łapę w dawce 50 µg.

L-NAME (Nw Nitro-L-Arginine Methyl Ester, Sigma) rozpuszczono w soli fizjologicznej i podawano szczurom dootrzewnowo w dawce 25 i 50 mg/kg mc po upływie 2 godzin od podania dawki LPS indukującej EIU.

Stan kliniczny oceniano w skali od 0 do 4 w biomikroskopie po 18-20 godzinach od podania LPS (0 – brak reakcji zapalnej, 1 –

dyskretne rozszerzenie naczyń tęczówki i spojówki, 2 – umiarkowane rozszerzenie naczyń tęczówki, 3 – intensywne przekrwienie tęczówki i opalescencja w przedniej komorze, 4 – objawy jak w stopniu 3. i obecność wysięku włóknikowego w obrębie żrenicy).

Pomiar ciśnienia w oku wykonano u szczurów w narkozie (Narkotan) za pomocą tonometru Tono Pen firmy Centrum Ophta-Lab. Płyn do pomiaru tlenu azotu pobierano strzykawką z przedniej komory oka przez punkcję. Oznaczenie tlenu azotu wykonano metodą kolorymetryczną wg Griesa (5).

Omówienie wyników i dyskusja

U zdrowych szczurów rasy Wistar ciśnienie śródgałkowe w naszych wcześniejszych badaniach w 100 oczach u 50 szczurów wynosiło 9,2 mm Hg i wahało się w granicach od 7,1 do 13,7 mmHg. Mermond i wsp. (6) stwierdzili, że u szczurów rasy Lewis ciśnienie śródgałkowe mierzone Tono Penem wynosi 16,86±5,22 mmHg w oku prawym i 17,09±5,36 mmHg w oku lewym. Funk i wsp. (3), którzy u szczurów rasy Lewis dokonywali jego pomiaru metodą bezpośrednią, stwierdzali niższe wartości, wynoszące 15,9±0,4 mmHg.

U szczurów, u których poprzez wstrzyknięcie LPS wywołano stan zapalny w oku, obserwowano wzrost ciśnienia śródgałkowego (tab. I). Średnie wartości ciśnienia wynosiły 21,1 mmHg w oku prawym i 21,5 mmHg w oku lewym. Natomiast u szczurów, którym dootrzewnowo podano inhibitor syntazy tlenu azotu L-NAME, ciśnienie śródgałkowe było niższe. W grupie, która

Grupa zwierząt ¹	Ocena stanu zapalnego w skali 0-4	Ciśnienie śródgałkowe (mmHg)	
		oko prawe	oko lewe
1. kontrola	0	9,1 ² (7,6-9,9)	9,1 (7,8-10,1)
2. po podaniu LPS 50 µg	3,6	21,1 (19,7-23,1)	21,5 (16,9-23,9)
3. po podaniu LPS 50 µg i L-NAME 50 mg/kg mc	1,4	10,7 (9,8-16,1)	10,2 (9,5-15,3)
4. po podaniu LPS 50 µg i L-NAME 25 mg/kg mc	1,9	12,3 (10,1-17,2)	12,5 (10,3-16,8)

Tabela I. Ciśnienie śródgałkowe u szczurów po podaniu LPS i ocena stanu zapalnego.

Table I. Intraocular pressure in rats after injection LPS and evaluation inflammation.

¹ 7 szczurów w grupie

² wartości średnie

otrzymała L-NAME w dawce 50 mg/kg, wynosiło ono 10,7 mmHg w oku prawym i 10,2 mmHg w oku lewym. Dawka L-NAME o połowę niższa również powodowała obniżenie ciśnienia śródgałkowego.

Dootrzewnowe podanie L-NAME powoduje zmniejszenie procesu zapalnego indukowanego podaniem lipopolisacharydu (4). Zmniejszenie stanu zapalnego i obrzęku rogówki stwierdzono po podaniu L-NAME metodą jonoforezy u szczurów, u których wywołano EIU (2).

Podanie L-NAME, zarówno w dawce 50 mg/kg mc jak i 25 mg/kg mc, spowodowało zmniejszenie procesu zapalnego do 1,4 i 1,9. W grupie kontrolnej natomiast nasilenie stanu zapalnego wynosiło 3,6 w czterostopniowej skali ocen (tab. I).

U szczurów z indukowanym stanem zapalnym poziom tlenu azotu w płynie z przedniej komory oka był wysoki i wynosił 157,6 µM, natomiast u szczurów, którym podano L-NAME w dawce 50 mg/kg mc, wynosił 20,1 µM.

Mechanizm prowadzący do wzrostu ciśnienia śródgałkowego w przebiegu procesu zapalnego indukowanego endotoksyną nie jest wyjaśniony. Działanie inhibitora syntazy tlenu azotu powodujące obniżenie ciśnienia śródgałkowego sugeruje, że tlenek azotu może brać udział w złożonym procesie prowadzącym do wzrostu ciśnienia śródgałkowego w EIU.

PIŚMIENNICTWO: 1. Allen J.B., McGahan M.C., Ferrel J.B., Adler K.B., Fleisher L.N.: *Nitric oxide synthase inhibitors exert differential time-dependent effects on LPS-induced uveitis*. Exp. Eye Res., 1996, 62(1), 21-28. 2. Bebar-Cohen F.F., Savoldelli M., Parel J.M., Goureau O., Tbillaye-Goldenberg B., Courtois Y., Pouliquen Y., de Kozak Y.: *Reduction of corneal edema in endotoxin-induced uveitis after application of L-NAME as nitric oxide synthase inhibitor in rats by iontophoresis*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1998, 39, 897-904. 3. Funk R., Rohen J.W., Skolasinska K.: *Intraocular pressure and systemic blood pressure after administration of vasoactive substances in hypertensive and normal rats*. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol., 1985, 223, 145-149. 4. Goureau O., Bellot J., Thillaye B., Courtois Y., de Kozak Y.: *Increased nitric oxide production in endotoxin-induced uveitis. Reduction of uveitis by an inhibitor of nitric oxide synthase*. J. Immunol., 1995, 154, 6518-6523. 5. Green L.C., Wagner D.A., Glogowski J., Skipper P.L., Wishnok J.S., Tannenbaum S.R.: *Analysis of nitrate, nitrite and (15N) nitrate in biological fluids*. Anal. Biochem., 1982, 126, 131. 6. Mermoud A., Baerveld G., Minckler D.S.: *Intraocular pressure in Lewis rats*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1994, 35, 2455-2460. 7. Rosenbaum J.T., MacDevitt H.O., Guss R.B., Egbert P.R.: *Endotoxin-induced uveitis in rats as a model for human disease*. Nature (Lond.), 1980, 286, 611-613.

Praca wpłynęła do Redakcji 20.03.2002 r. (71)

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
doc. dr hab. n. med. Stanisław Szymaniec
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN
ul. Weigla 12
53-134 Wrocław