

(127)

# Rola tlenku azotu w chorobach oka

## Role of nitric oxide in ophthalmic diseases

Marek Gerkowicz<sup>1</sup>, Ewa Kosior-Jarecka<sup>1,2</sup>, Maria Koziół-Montewka<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Z II Kliniki Okulistyki Akademii Medycznej im. F. Skubiszewskiego w Lublinie

Kierownik: dr hab. n. med. Marek Gerkowicz

<sup>2</sup>Z Katedry i Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej Akademii Medycznej im. F. Skubiszewskiego w Lublinie

Kierownik: dr hab. n. med. Maria Koziół-Montewka

**Summary:** Nitric oxide is a unique molecule with simple chemical structure and sophisticated and heterogeneous functions in human organism. In this article, we reviewed possible participations of nitric oxide in physiological and pathological states inside the eye (eg. glaucoma, cataract, uveitis and retinal disorders).

**Słowa kluczowe:** tlenek azotu, jaskra, zapalenie naczyń, zaćma, choroby oka.

**Key words:** nitric oxide, glaucoma, uveitis, cataract, ophthalmic diseases.

Tlenek azotu (NO) jest unikatową cząstką o prostej budowie chemicznej i wielu różnorodnych funkcjach. W zależności od ilości i miejsca syntezy może działać jako czynnik rozkurczający naczynia lub oskrzela, neuroprzebieżnik w synapsie, wolny rodnik lub silny czynnik bakteriobójczy.

Tlenek azotu powstaje w czasie enzymatycznego utleniania aminokwasu L-argininy katalizowanego przez syntazy tlenku azotu. Istnieją trzy izoformy tego enzymu, różniące się lokalizacją i warunkami działania. Dwie z nich to syntazy konstytutywne, tzn. stale produkujące niewielkie ilości NO: endotelialna syntaza NO (eNOS) i neuronalna syntaza NO (nNOS). Forma indukcyjna syntazy tlenku azotu (iNOS) uaktywniana jest w określonych warunkach. Konstytutywne syntazy produkują niewielkie (piko-nanomolarnie) ilości NO w odpowiedzi na pobudzenie receptorów przez bradykininę czy acetylocholinę. Produkowany przez nie tlenek azotu odpowiada głównie za przekazywanie sygnału wewnątrzkomórkowego i komunikację pomiędzy komórkami (9). Aktywacja indukcyjnej syntazy NO przez bodźce aktywujące proces zapalny powoduje produkcję znacznie większych (mikromolarnych) ilości tlenku azotu. Powstający w ten sposób NO działa bakteriobójczo, jest mediatorem nasilającym zapalenie, ale może też spowodować uszkodzenie otaczających komórek i tkanek (11).

Tlenek azotu nie ma cech typowego przekazywacza. Nie ma własnego układu receptorowego, dyfunduje z miejsca syntezy i oddziałuje z różnymi wewnątrzkomórkowymi cząsteczkami. Najlepiej poznanym miejscem docelowym jest enzym rozpuszczalna cyklaza guanylowa, aktywowany pod wpływem tlenku azotu (1,9). Tlenek azotu nie jest magazynowany w komórce ani transportowany. Jest to spowodowane jego niestabilnością chemiczną (czas półtrwania NO wynosi 0,1-5,5 s). Powstający w organizmie NO podlega różnorodnym przemianom, których rodzaj zależy od warunków środowiska i od których zależy ostateczny efekt jego działania.

Tlenek azotu, zwłaszcza jeśli jest produkowany w większych ilościach przez indukcyjną syntazę NO, może łączyć się z wolnymi

rodnikami tlenowymi (ROS), żelazem lub miedzią i ulegać przekształceniu do wysoko toksycznych reaktywnych pochodnych azotowych (np. peroksyazotynów) o działaniu bakteriobójczym, ale też uszkodzającym tkanki gospodarza (5).

W obrębie oka zidentyfikowano wszystkie izoformy syntazy tlenku azotu: endotelialną i neuronalną syntazę tlenku azotu, izoformy konstytutywne oraz indukcyjną formę syntazy tlenku azotu. Neuronalna syntaza NO (nNOS) została zlokalizowana w niektórych komórkach amakrynowych, w warstwie jądrzastej wewnętrznej i w obrębie warstwy światłoczułej siatkówki. Izoforma ta występuje również w zakończeniach nerwowych tkanek przedniego odcinka oka. Endotelialna syntaza tlenku azotu (eNOS) znajduje się w śródbłonku naczyniowym naczyń spojówki, błony naczyniowej i siatkówki. Inne tkanki bogate w odmianę endotelialną syntazy tlenku azotu to mięsień rzęskowy i droga odpływu cieczy wodnistej (utkanie beleczkowe i kanał Schlemma). Indukcyjna syntaza tlenku azotu nie produkuje stale NO, ale może ulegać aktywacji w siatkówce po stymulacji bodźcami zapalnymi, np. bakteryjną endotoksyną czy mediatorami zapalenia. W warunkach procesu zapalnego indukcyjną NOS można znaleźć m. in. w komórkach zwojowych, komórkach warstwy barwnikowej siatkówki i perycycjach naczyń siatkówkowych (2).

### Schorzenia przedniego odcinka oka

Endotelialna syntaza NO znajdująca się w śródbłonku naczyń spojówki w warunkach fizjologicznych bierze udział w regulacji napięcia ściany naczyń i ich przekroju, co wpływa na regulację szybkości przepływu krwi. W badaniach doświadczalnych udowodniono udział tlenku azotu w rozwoju alergicznego zapalenia spojówek. NO powstaje w dużych ilościach w ostrej fazie alergii i powoduje rozszerzenie naczyń, prowadząc do nasilenia przepływu naczyniowego w spojówce i zwiększenia przepuszczalności naczyń, co przyczynia się do powstawania obrzęku (2).

W obrębie rogówki syntazy tlenu azotu zostały zlokalizowane we włóknach nerwowych rąbka oraz w śródbłonku i nabłonku rogówki. Ich fizjologiczna rola jest nieznaną (2).

Jedną z syntaz tlenu azotu (dotychczas bliżej nieokreśloną) znajduje się w nabłonku soczewki. Jej rola fizjologiczna nie została zbadana, natomiast badania wskazują, że nadmierne ilości tlenu azotu mogą być jednym (oprócz dymu papierosowego i promieniowania ultrafioletowego) z czynników sprzyjających rozwojowi zaćmy. W badaniach *in vitro* stwierdzono, że podczas inkubacji azotynów (produktów przemiany tlenu azotu) z alfa-kryształiną soczewkową występowały w soczewce zmiany białkowe podobne do obserwowanych w jądrowej zaćmie starczej. Ponadto stwierdzono, że ilość indukcyjnej syntazy NO jest 12 razy wyższa w soczewkach z zaćmą niż w zdrowych, a aminoguanidyna, inhibitor indukcyjnej NOS stosowany w badaniach doświadczalnych, hamuje rozwój zaćmy. W homogenacie z ludzkich soczewek usuniętych w czasie operacji zaćmy obserwowano wyższe stężenia azotynów niż w soczewkach pacjentów bez zaćmy (12).

Najwyższe stężenia azotynów obserwowano w soczewkach pacjentów z zaćmą podtorebkową tylną, często związaną z takimi schorzeniami, jak cukrzyca, zwyrodnienie barwnikowe siatkówki, odwarstwienie siatkówki. Zaćma podtorebkowa tylna rozwija się również po urazach oka, pod wpływem promieniowania nadfioletowego czy po przewlekłym stosowaniu niektórych leków. Indukcyjna syntaza tlenu azotu, produkująca duże ilości NO, jest aktywowana w warunkach patologicznych przez bakteryjne endotoksyny, cytokiny i inne mediatory zapalenia. Hipotetyczny czynnik powodujący powstanie zaćmy podtorebkowej tylnej może zapoczątkowywać aktywację iNOS w oku, szczególnie w przednim segmencie, co w rezultacie prowadzi do rozwoju zmętnienia pod turebką tylną. W schorzeniach sprzyjających tworzeniu zaćmy (np. w cukrzycy) udowodniono występowanie podwyższonego stężenia NO w płynie komory przedniej oka (12).

### Jaskra

Udział tlenu azotu w rozwoju jaskry jest wielostronny. Tlenek azotu bierze udział w regulacji ciśnienia wewnątrzgałkowego, przepływu krwi w krążeniu ocznym (w tym zaopatrującym tarczę nerwu wzrokowego) i procesach patologicznych prowadzących do obumierania komórek zwojowych.

Na wielkość ciśnienia wewnątrzgałkowego wpływają ilość wydzielanej cieczy wodnistej i szybkość odpływu, zależna od oporu napotykanego w kanałach odprowadzających i wielkości ciśnienia w żyłach nadtwardówkowych. Siateczka beleczkowania jest głównym miejscem kontroli szybkości odpływu cieczy wodnistej (5).

W obrębie przedniej części oka znajduje się wiele miejsc potencjalnego działania tlenu azotu: mięsień rzęskowy, utkanie beleczkowe i mięśnie gładkie naczyń w układzie odpływu cieczy wodnistej (2).

Siateczka beleczkowania ma elementy kurczliwe, które kurczą się pod wpływem endoteliny i rozkurczają pod wpływem tlenu azotu. Tlenek azotu wzmacnia odpływ cieczy wodnistej i obniża ciśnienie wewnątrzgałkowe. Endotelina działa przeciwnie: zmniejsza odpływ, co powoduje wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego (5).

Mięsień rzęskowy, a zwłaszcza jego wiązka podłużna przednia i drogi odpływu cieczy wodnistej (siateczka beleczkowania, kanał Schlemma i kanały zbiorcze) zdrowego ludzkiego oka są bogate w endotelialną syntazę NO (2). Siateczka beleczkowania i kanał Schlemma są głównymi miejscami regulacji oporu odpływu (2), a opór utkania beleczkowego jest zależny od napięcia mięśnia rzęskowego (zwłaszcza wiązki podłużnej przedniej).

Tlenek azotu reguluje ciśnienie wewnątrzgałkowe poprzez wpływ na napięcie mięśnia rzęskowego i poprzez zmniejszanie oporu w drogach odpływu cieczy wodnistej. Zahamowanie NOS powoduje skurcz utkania beleczkowego i mięśnia rzęskowego w badaniach *in vitro*, a podanie donorów NO powoduje rozkurcz mięśnia zwieracza żrenicy i mięśnia rzęskowego (13). Obserwowano również spadek ciśnienia wewnątrzgałkowego po podaniu ogólnym wazodilatatorów działających poprzez uwalnianie tlenu azotu (2).

W przewlekłej jaskrze otwartego kąta stwierdzono zmniejszoną ilość i zmienione rozmieszczenie syntaz NO w obrębie utkania beleczkowego i kanału Schlemma oraz zmniejszoną ilość włókien wiązki podłużnej mięśnia rzęskowego (2,5). W płynie przedniej komory pacjentów z jaskrą pierwotnie otwartego kąta obserwowano zmniejszone stężenie tlenu azotu, co mogłoby wskazywać na zaburzenia śródbłonka jako możliwą przyczynę lub skutek tego rodzaju jaskry (4,14, niepublikowane dane własne). Wszystkie te czynniki mogą sprzyjać podwyższeniu ciśnienia wewnątrzgałkowego.

W ostrej pierwotnej jaskrze zamkniętego kąta obserwowano natomiast zwiększone stężenie NO w płynie przedniej komory oka, co może wskazywać, że jest to mechanizm obronny mający na celu poprawę odpływu cieczy wodnistej (3).

Naczyniowa teoria rozwoju jaskry zakłada, że uszkodzenie komórek zwojowych w przebiegu jaskry wynika przynajmniej częściowo z zaburzeń w krążeniu zaopatrującym nerw wzrokowy (4). W wielu badaniach potwierdzono, że w przewlekłej jaskrze pierwotnie otwartego kąta występuje zmniejszone zaopatrzenie w krew tarczy nerwu wzrokowego (13), jednakże do tej pory nie znaleziono dokładnej zależności pomiędzy tymi czynnikami i nie wiadomo, czy zmniejszony przepływ w tarczy nerwu wzrokowego jest przyczyną, czy skutkiem jaskry.

Zmiany w zaopatrzeniu nerwu wzrokowego w krew w przebiegu jaskry mogą wiązać się z dysfunkcją śródbłonka (4), z zaburzoną regulacją ciśnienia tętniczego (szczególnie w nadciśnieniu i niedociśnieniu) i ze zwiększoną lepkością krwi. Tlenek azotu wiąże się z każdym z tych czynników.

Teoria naczyniowa rozwoju jaskry zakłada istnienie u pacjentów z jaskrą dysregulacji naczyniowej związanej z dysfunkcją śródbłonka (endoteliopatią). Objawia się ona skurczem naczyń po stronie tętniczej i nadmierną relaksacją po stronie żyłnej (7,15). Zmniejszona produkcja NO przez komórki śródbłonka naczyniowego może powodować przewagę reakcji naczynioskurczowych, co wynika z zachwiania równowagi między czynnikami wywołującymi skurcz i rozkurcz naczyń. W warunkach fizjologicznych aktywacja receptorów błonowych komórek śródbłonka naczyniowego przez acetylocholinę powoduje napływ do komórki jonów wapnia. Zwiększone stężenie wapnia powoduje skurcz naczyń. Jednocześnie w warunkach fizjologicznych zwiększone stężenie wapnia aktywuje endotelialną syntazę tlenu azotu, a działający rozkurczająco NO powoduje ostatecznie rozkurcz naczyń. W przypadku istnienia dysfunkcji śródbłonka może dochodzić do zmniejszenia produkcji tlenu azotu, co spowoduje miejscowy skurcz naczyń (5).

Nieodwracalna utrata wzroku pojawiająca się w przebiegu jaskry wiąże się z utratą komórek zwojowych w procesie apoptozy. Jeden z mechanizmów programowanej śmierci komórki może być zapoczątkowany przez zwiększone ilości NO (5).

### Zapalenie błony naczyniowej

Zapalenie błony naczyniowej wywoływane przez bakteryjną endotoksynę służy jako model niektórych postaci zapalenia oka,

występujących m. in. w zespole Reitera, chorobie Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego, sarkoidozie i chorobie Behçeta (16). Podanie do ciała szklatego endotoksyny wywołuje ostre zapalenie przedniego odcinka oka z zapaleniem naczyńkowo-siatkówkowym. Za rozwój tego typu zapalenia błony naczyniowej, które objawia się poszerzeniem tęczówkowych naczyń, przeciekaniem białek surowicy do płynu przedniej komory i naciekiem leukocytowym w naczyniówce i cieczy wodnistej odpowiedzialne są mediatory zapalenia, cytokiny (10).

Badania doświadczalne wykazały, że dootrzewnowe podanie inhibitorów syntazy NO zmniejsza nasilenie klinicznych objawów zapalenia błony naczyniowej. Sugeruje to udział NO jako czynnika aktywującego proces zapalny w przebiegu zapalenia błony naczyniowej indukowanego endotoksyną. Tlenek azotu w przebiegu tego procesu jest produkowany przede wszystkim przez komórki naciekające przednią komorę i siatkówkę w trakcie zapalenia (makrofagi, neutrofile) poprzez indukcyjną syntazę NO, a poziom tlenu azotu w ciele szklistym odpowiada nasileniu obrazu klinicznego. Prowadzone są badania nad zastosowaniem leków blokujących produkcję i obniżających stężenie NO w zapaleniach naczyniówki analogicznych do zapalenia błony naczyniowej wywołanego endotoksyną (2,8).

### Schorzenia siatkówki

Syntazy tlenu azotu znajdują się w błonie presynaptycznej i postsynaptycznej neuronów, a badania doświadczalne sugerują ich udział w wielu zjawiskach związanych z przekazywaniem synaptycznym. Tlenek azotu jest uwalniany do szczeliny synaptycznej w neuronach glutaminianowych, gdzie może działać jako modulator przekazywania bodźca w obrębie synapsy. Może też zmieniać informację wzrokową poprzez regulację przewodnictwa niektórych kanałów jonowych komórek światłoczułych (2).

Tlenek azotu w większych ilościach staje się neurotoksyczny. W badaniach doświadczalnych stwierdzono, że uszkodzenia wiązane z kwasem glutaminianowym (wywołuje m. in. apoptozę komórek nerwowych) wiążą się ze zwiększoną ilością NO w synapsie (11).

Z powodu rozpowszechnienia i wszechstronnego działania na dużą skalę prowadzone są badania nad możliwym udziałem NO w chorobach siatkówki. Komórki produkujące tlenek azotu w obrębie siatkówki to komórki stałe (komórki warstwy barwnikowej i komórki zwojowe) lub napływowe (makrofagi, neutrofile). Mają one głównie indukcyjną formę syntazy NO (iNOS), obecności pozostałych izoform nie stwierdzono (2).

Podwyższoną ekspresję iNOS stwierdzono w zapaleniach siatkówki wywołanych przez wirusa cytomegalii w przebiegu AIDS. Tlenek azotu ma działanie przeciwwirusowe, ale w zwiększonej ilości uszkadza siatkówkę, m. in. powodując osłabienie fagocytozy błon zewnętrznych fragmentów czopków przez komórki nabłonka barwnikowego siatkówki, co doprowadza do degeneracji komórek receptorowych siatkówki (2).

Wolne rodniki tlenowe mogą powodować uszkodzenie siatkówki powstające pod wpływem promieniowania ultrafioletowego. Niektóre badania sugerują udział NO w tym procesie (naświetlanie siatkówki promieniowaniem nadfioletowym aktywuje syntazę tlenu azotu, a poziom indukcyjnej NOS jest skorelowany z uszkodzeniem komórek receptorowych siatkówki). Proponowanych jest kilka mechanizmów wyjaśniających, jak tlenek azotu pod wpływem światła uszkadza siatkówkę. Tlenek azotu wzmacnia produkcję cGMP, co powoduje nadmierny napływ jonów wapnia do komórki i jej uszko-

dzenie. Wewnątrz komórki NO może modyfikować budowę i działanie białek fotoreceptorów. Przede wszystkim jednak tlenek azotu, łącząc się z aktywnymi pochodnymi tlenu, przekształca się w wolny rodnik o wysokiej toksyczności dla otaczających tkanek (2).

Tlenek azotu jest jednym z czynników regulujących w badaniach *in vitro* podziały niektórych komórek siatkówki. Prowadzone są badania nad oceną związku stężenia NO ze schorzeniami siatkówki, w których przebiegu dochodzi do proliferacji nabłonka barwnikowego siatkówki (proliferaacja witreo-retinalne) (2). W surowicy i płynie przedniej komory oka pacjentów z cukrzycą stwierdzono wyższy poziom NO. Wykazano również podwyższony poziom tlenu azotu w ciele szklistym pacjentów z cukrzycową retinopatią proliferacyjną (6,12).

Ostatnio pojawiły się doniesienia na temat ochronnej roli NO dla komórek zwojowych siatkówki po akstomii. Działanie to prawdopodobnie wiąże się z aktywnością stale aktywnych form syntazy NO. Tlenek azotu wytwarzany przez śródbłonek naczyń i niektóre zakończenia nerwowe działa jako czynnik rozkurczający tętnic i tętniczek siatkówkowych. Wykazano udział NO w uszkodzeniach niedokrwiennych siatkówki, jednakże jego rola, ochronna czy uszkadzająca, nie jest dokładnie określona. NO może sprzyjać uszkodzeniu neuronów poprzez wytwarzanie wolnych rodników, wyraźnie podwyższających stopień uszkodzenia siatkówki. Z drugiej strony jako czynnik rozkurczający naczynia tlenek azotu poprawia przepływ krwi w czasie epizodu niedokrwiennego i tuż po nim (2).

Badania nad udziałem tlenu azotu w procesach fizjologicznych i patologicznych w obrębie oka mogą przyczynić się do wyjaśnienia etiologii niektórych schorzeń okulistycznych. Daje to również nadzieje na skuteczne stosowanie w praktyce klinicznej analogów tlenu azotu (np. w jaskrze) lub inhibitorów syntazy tlenu azotu (zwłaszcza indukcyjnej NOS) w procesach zapalnych oka i schorzeniach degeneracyjnych siatkówki.

### PIŚMIENNICTWO:

1. Abramson S., Amin A., Clancy R., Attur M.: *The role of nitric oxide in tissue destruction*. *Prac. Res. Clin. Rheumatol.*, 2001, 5, 831-845.
2. Becquet F., Courtois Y., Goureau O.: *Nitric oxide in the eye: multifaceted roles and diverse outcomes*. *Surv. Ophthalmol.*, 1997, 42, 71-82.
3. Chiou S., Chang J., Hsu W. and coll.: *Elevated nitric oxide level in aqueous humor of patients with acute angle-closure glaucoma*. *Ophthalmol.*, 2001, 215, 113-116.
4. Flammer J.: *The vascular concept of glaucoma*. *Surv. Ophthalmol.*, 1994, 38, 3-6.
5. Haefliger I., Dettmann E., Rong L. and coll.: *Potential role of nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma*. *Surv. Ophthalmol.*, 1999, 43, 51-58.
6. Hattenbach L., Allers A., Klais C., and coll.: *L-arginine-nitric oxide pathway-related metabolites in the aqueous humor of diabetic patients*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2000, 41, 213-217.
7. Koss M.: *Functional role of nitric oxide in regulation of ocular blood flow*. *Eur. J. Pharmacol.*, 1999, 374, 161-174.
8. Liversidge J., Dick A., Gordon S.: *Nitric oxide mediates apoptosis through formation of peroxynitrite and Fas/Fas-ligand interactions in experimental autoimmune uveitis*. *Am. J. Pathol.*, 2002, 160, 905-916.

9. Moodley Y.: *The role of inducible nitric oxide in health and disease*. Curr. Diagn. Pathol., 2002, 8, 297-304.
10. McMenaamin P., Crewe J.: *Cellular localisation and dynamics of nitric oxide synthase expression in rat anterior segment during endotoxin-induced uveitis*. Exp. Eye Res., 1997, 65, 157-164.
11. Neufeld A.: *Nitric oxide: potential mediator of retinal ganglion cell damage in glaucoma*. Surv. Ophthalmol., 1999, 43, 129-135.
12. Ornek K., Fatih K., Buyukbingol Z.: *May nitric oxide molecule have a role in the pathogenesis of human cataract?* Exp. Eye Res., 2003, 76, 23-27.
13. Schmetterer L., Polak K.: *Role of nitric oxide in the control of ocular blood flow*. Progr. Ret. Eye Res., 2001, 20, 823-847.
14. Tsai D., Hsu W., Chiou C. and coll.: *Significant variation of the elevated nitric oxide levels in aqueous humor from patients with different types of glaucoma*. Ophthalmologica, 2002, 216, 346-350.
15. Wierzbowska J.: *Ogólne założenia patogenezy i farmakologicznego leczenia jaskry*. Mag. Med., 2003, 2, 26-34.
16. Yilmaz G., Yilmaz E., Duman S., Aydin P.: *Aqueous humor nitric oxide levels in patients with Behcet disease*. Retina, 2002, 22, 330-335.

Praca wpłynęła do Redakcji 1.02.2004 r. (580).  
Zakwalifikowano do druku 4.05.2005 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
lek. med. Ewa Kosior-Jarecka  
II Klinika Okulistyki  
ul. Chmielna 1  
20-093 Lublin

**STOWARZYSZENIE ZWYRODNIENIA PLAMKI ZWIĄZANEGO  
Z WIEKIEM /AMD/, UPRZEJMIE INFORMUJE  
O ZMIANIE NUMERU TELEFONU.**

**Aktualnie prosimy dzwonić pod numer:  
022 - 831 21 39.**

**Przypominamy, że biuro Stowarzyszenia AMD jest czynne w godzinach:  
w pon.- śr.: 8.30-12.30, czw.: 12.00-16.00, pt.: 9.00-13.00.**

**Adres Stowarzyszenia AMD:  
00-216 Warszawa, ul. Konwiktorska 9 p. 35.**