

(38)

Poziom endoteliny-1 we krwi pacjentów z jaskrą pierwotną otwartego kąta oraz jej wpływ na występowanie zmian w perymetrii statycznej i GDx

The endothelin-1 level in blood serum of patients with primary open angle glaucoma and its influence on the static perimetry and Gdx changes

Elżbieta Pieńkowska-Machoy¹, Barbara Millo²

¹Z Katedry Okulistyki z Kliniką i Zakładem Patofizjologii Narządu Wzroku

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

²Z Katedry Biochemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej Pomorskiej Akademii Medycznej w Szczecinie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Marek Naruszewicz

Summary:

Purpose: The aim of the work was to define the relationships between the endothelin-1 level in blood serum of glaucoma patients concerning the visual field defects and the number of nerve fibers.

Material and methods: 24 women and 14 men, aged 38-74 year (mean 53,4 year) with primary open angle glaucoma, without any systemic diseases. The control group consisted of 20 healthy women and men, aged 34-70 year (mean 52,6 year). The endothelin-1 level was tested with the enzyme-immunologic method from the blood serum. The visual field defects were examined with the Humphrey static perimetry. The nerve fibers were analyzed with the Gdx apparatus. Results: Mean value of ET-1 in blood serum were similar in both examined groups, it was 0.51 in group of glaucoma patients and 0.54(fmol/l) in the control group. There were no significant correlations between ET-1 level, static perimetry, GDx parameters and age in the group of patients with POAG. The statistics significance were stated for ET-1 level and MD-parameter in static perimetry ($p < 0,03$) and ET-1 level with The Number – the GDx parameter ($p < 0,03$). Conclusion: There was no significant level of ET-1 in blood serum in group of patients with POAG. There have not been stated any relationships between the static perimetry and GDx changes in patients with POAG to endothelin-1 level in blood serum. It is the preliminary communication.

Słowa kluczowe: jaskra, endotelina-1, perymetria statyczna, GDx
Key words: glaucoma, endothelin-1, static perimetry, GDx.

Jaskra jest grupą chorób oczu, w której dochodzi do postępującego zaniku nerwu wzrokowego przebiegającego z charakterystycznymi zmianami w wyglądzie jego tarczy oraz progresywnie postępującymi zmianami w polu widzenia. Całkowity zanik włókien nerwu wzrokowego, który jest ostatecznym stadium choroby, jest równoznaczny z całkowitą i nieodwracalną utratą wzroku.

Patomechanizm choroby jest wieloczynnikowy. Do połowy lat 90. ubiegłego stulecia za najistotniejszy czynnik patogenny uznawano podwyższone ciśnienie śródgałkowe. Obecnie przyczyny choroby upatruje się także w zaburzeniu układu mikrokrążenia, którego regulacja zależy również od grupy hormonalnie aktywnych 21-aminokwasowych wazoaktywnych peptydów, nazwanych endotelinami.

Endoteliny jako bardzo ważny i silnie oddziałujący czynnik zwężający naczynia zostały odkryte w 1988 roku (7,8). Wyróżniono w nich 3 izoformy (1, 2 i 3) i 2 receptory – podtyp A i B. Produkowane są one przez wiele komórek i tkanek. Reprezentowane są głównie przez endotelinę-1, produkowaną przez komórki śródbłonna, która wykazuje najmocniejsze działanie naczyniozwężające (1,3,5,11), intensywnie kurczy błonę mięśniową gładką naczyń obwodowych, podwyższając silnie i długotrwałe ciśnienie tętnicze (12). Odkrycie endotelin otworzyło nową, wzbogacającą istniejącą, drogę poszukiwań przyczyn zmian w narządzie wzroku w przebiegu jaskry.

Celem pracy jest stwierdzenie zależności między poziomem endoteliny-1 (ET-1) we krwi u pacjentów chorych na jaskrę pierwot-

Parametry Parameters	n oczu/ eyes	N	Min-max	Q1-Q2	me	X±SD	P
Wiek Age	38 osób /40 patients	++	38-74 34-70	47-59 48-57,5	52,5 52	53,4±7,9 52,6±8,5	>0,6
Endotelina-1 Endothelin-1	35osób 36patients	- -	0,27-1,27 0,33-1,02	0,39-0,57 0,42-0,61	0,47 0,47	0,51±0,19 0,54±0,18	>0,17
Visus Visual aquity	76 79	- -	0-1,0 0-1,0	1,0-1,0 0,8-1,0	1,0 1,0	0,9±0,2 0,8±0,4	<0,004*
IOP	71 70	- -	10-22 9-24	14-18 14-17	17 15	16±3 15±3	<0,05
MD	72 60	- -	(-30,65)-1,34 (-5,90)-5,91	(-4,33)-0,02 (-0,95)-0,74	-1,32 0,01	-4,27±7,47 -0,17±1,76	<0,0001*
PSD	72 58	- -	1,07-16,84 0,97-3,67	1,45-5,01 1,37-1,93	1,75 1,59	3,78±3,72 1,78±0,62	<0,006
Symetry	72 60	- +	0,66-1,62 0,70-1,29	0,88-1,02 0,87-1,05	0,94 0,96	0,96±0,14 0,96±0,13	>0,94
Superior Ratio	72 60	+ +	0,98-3,46 1,24-3,42	1,64-2,18 1,83-2,37	1,94 2,13	1,95±0,49 2,09±0,44	<0,04*
Inferior Ratio	72 60	- +	0,98-3,30 1,30-3,72	1,74-2,33 1,91-2,39	2,04 2,21	2,04±0,50 2,20±0,48	>0,08
Superior/Nasal Ratio	72 60	+ +	1,11-2,77 1,23-2,31	1,46-1,95 1,59-2,01	1,72 1,83	1,73±0,35 1,81±0,26	>0,06
Max. Modulation	72 60	- +	0,39-2,46 0,47-2,72	0,94-1,41 1,09-1,51	1,16 1,28	1,21±0,45 1,34±0,41	<0,05
The Number	72 60	- -	7-87 8-66	14-49 12-24	27,5 17	33,3±21,7 20±12	<0,0006*
Ellipse Modulation	72 60	+ +	0,79-3,58 0,86-4,07	1,76-2,78 2,11-2,98	2,22 2,51	2,25±0,70 2,52±0,68	<0,03*
Average Thickness	72 60	- +	46-103 49-107	57-70,5 61-78	61 71	64,5±12,5 71,5±12,6	<0,0004*

Tab. I. Statystyka opisowa i analiza statystyczna.

Tab. I. Descriptive statistic and statistical analysis.

N – number of eyes/ patients, N – normal distribution, min-max – minimum-maximum value, Q1-Q3 – upper and lower quartyl, x±SD standard deviation

ną otwartego kąta (POAG) w odniesieniu do zmian w narządzie wzroku, wyrażonych ubytkami w polu widzenia, oraz liczby włókien nerwowych liczonych na tarczy nerwu wzrokowego.

Materiał i metodyka

Wykonano badania u 38 pacjentów, 24 kobiet i 14 mężczyzn, w wieku 38-74 lat (średnio 53,4 roku), leczonych z powodu jaskry pierwotnej otwartego kąta. Grupę kontrolną stanowiło 40 zdrowych osób w wieku 34-70 lat (średnio 52,6 roku). U wszystkich pacjentów wykonano badanie ostrości wzroku do dali, badanie ciśnienia śródgałkowego tonometrem aplanacyjnym, ocenę kąta przesączenia gonioskopem Zeissa, tarczy nerwu wzrokowego oftalmoskopią pośrednią soczewką Volka 90D i perymetrię statyczną polarymetrem komputerowym Humphreya, zbadano też liczbę włókien nerwowych, posługując się skaningowym laserowym polarymetrem – analizatorem warstwy włókien nerwowych typu GDX (Nerve Fiber Analyzer Gdx, LDT inc, San Diego, CA, USA). Badanie

poziomu endoteliny-1 oznaczano metodą enzymo-immunologiczną (ELISA) testami firmy BIOMEDICA (Austria). Świeżo pobraną krew na EDTA zabezpieczano w obniżonej temperaturze i odwirowywano w ciągu 1 godziny. Osocze przechowywano w temperaturze -20°C . Wszystkie próby oznaczano podwójnie i postępowano zgodnie z załączoną metodyką. Gęstość optyczną mierzono przy 405 nm (uwzględniając absorpcję przy 618 nm) na czytniku Titek Multisan 310 (Finlandia). Wartości ET-1 w surowicy krwi ludzkiej, uznane za prawidłowe dla tej metody, wynoszą 0,2-0,7 fmol/ml.

Analiza statystyczna

Sprawdzono zgodność rozkładu badanych parametrów z rozkładem normalnym, stosując test W-Shapiro-Wilka. W charakterystyce rozkładu badanych parametrów zgodnym z rozkładem normalnym uwzględniono liczebność grupy, zakres zmienności i średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe. W charakterystyce rozkładu parametrów niezgodnych z rozkładem normalnym uwzględnio-

Parametry Parameters	Jaskra otwartego kąta/ POAG			Grupa kontrolna/ Control group		
	n	r _s	p	n	r _s	p
Wiek/Age	35 osób/patients	0,206	>0,2	36 osób/patients	-0,064	>0,7
MD	66	0,94	>0,4	52	-0,321	<0,03*
PSD	66	-0,058	>0,6	50	0,037	>0,7
Symetry	66	-0,020	>0,8	52	-0,226	>0,1
Superior Ratio	66	-0,187	>0,1	52	0,163	>0,2
Inferior Ratio	66	-0,071	>0,5	52	0,247	>0,07
Superior/ Nasal Ratio	66	0,043	>0,7	52	0,109	>0,4
Maximal Modulation	66	-0,166	>0,1	52	0,166	>0,2
The Number	66	-0,027	>0,8	52	-0,326	<0,02*
Ellipse Modulation	66	-0,080	>0,5	52	0,125	>0,3
Average thickness	66	0,189	>0,1	52	0,138	>0,3

Tab. II. Korelacje poziomu endoteliny-1, wieku i parametrów perymetrii statycznej oraz GDx w grupie pacjentów z jaskrą otwartego kąta i kontrolą (r_s – współrzędna rang Spearmana, n – liczba oczu, p – poziom istotności).

Tab. II. The correlation of endothelin level with age, the static perimetry and GDx parameters in group of patients with POAG and control (r_s-rang of Spearman coefficient, n – number of eyes, p -significant level).

r_s – rang of Spearman coefficient, n – number of eyes, p – significant level

no liczebność grupy, zakres zmienności, medianę, dolny i górny kwartył.

Analizę zależności pomiędzy badanymi parametrami a poziomem endoteliny-1 przeprowadzono, obliczając współczynnik korelacji liniowej Pearsona dla parametrów o rozkładzie normalnym lub współczynnik korelacji rang Spearmana w przypadku, gdy co najmniej 1 z parametrów nie podlegał rozkładowi normalnemu.

Porównań międzygrupowych dokonano, stosując nieparametryczny test istotności – test U Manna-Whitneya, lub parametryczny test istotności t-Studenta dla prób niezależnych, poprzedzony testem analizy wariancji. Ustalono dopuszczalne prawdopodobieństwo błędu pierwszego rodzaju (poziom istotności testu) p=0,05.

Dokonując analizy statystycznej wyników badania perymetrii statycznej, brano pod uwagę średnie odchylenie od normy – MD, oraz odchylenie standardowe – PSD. Spośród wyników badania liczby włókien nerwowych aparatem GDx w obliczeniach uwzględniono symetrię pomiędzy górną a dolną wyniosłością nerwu (Symetry), Superior, Inferior i Superior/ Nasal Ratio – stosunek średniej uzyskanej z 1500 pikseli o największej grubości kolejno w górnych, dolnych górno-nosowych kwadrantach, Maximal Modulation – zbiorczy parametr retardacji, wskazujący różnicę między najgrubszą a najcieńszą częścią nerwu wzrokowego, Ellipse Modulation – podobnie do poprzedniej wartości, ale w obrębie elipsy, Average Thickness – średnią grubość warstwy włókien nerwowych generowaną przez komputer na podstawie pomiaru, GDx Numer – parametr mówiący o prawdopodobieństwie i zaawansowaniu neuropatii.

Wyniki

W grupie chorych leczonych z powodu jaskry i w grupie kontrolnej nie u wszystkich pacjentów możliwe było wykonanie kompletu badań bądź też wyniki badań nie kwalifikowały się do obliczeń statystycznych. Stąd też liczebność pacjentów i oczu poddanych analizie różni się w poszczególnych badaniach, co zostało zaznaczo-

ne w poszczególnych tabelach.

Spośród 14 badanych parametrów w przypadku 4 otrzymano zgodność z rozkładem normalnym. Rozkład zaś pozostałych 8 parametrów różnił się istotnie statystycznie od normalnego.

Średnie wartości ET-1 u pacjentów z POAG wynosiły 0,51, w grupie zaś kontrolnej – 0,54 (fmol/ml). Wartości te nie są istotne. Istotnie statystycznie dla obu grup badanych okazały się wartości MD i PSD w perymetrii statycznej, które wynoszą odpowiednio (p<0,0001) i (p<0,006), w badaniu GDx wartości Superior Ratio (p<0,04), Maximal Modulation (p<0,05), The Number (p<0,0006), Ellipse Modulation (p<0,03), Average Thickness (p<0,0004).

W grupie pacjentów z jaskrą nie stwierdzono korelacji istotnych statystycznie między ET-1 a parametrami pola widzenia, GDx i wiekiem.

W grupie kontrolnej istotność statystyczną stwierdzono dla zależności ET-1 a MD w perymetrii statycznej (p<0,03) oraz dla zależności ET-1 i The Number w badaniu GDx (p<0,03).

Dyskusja

Zgodnie z obecnym stanem wiedzy w patogenezie jaskry można wyodrębnić dwie wzajemnie się przenikające i uzupełniające teorie, tzw. mechaniczną, ciągle obowiązującą w przypadkach choroby z wysokim ciśnieniem śródgałkowym, oraz naczyniową, dotyczącą przede wszystkim choroby z niskim lub normalnym ciśnieniem śródgałkowym, która obejmuje różne mechanizmy prowadzące do zaburzonego przepływu krwi w naczyniach krwionośnych, głównie w mikrowłośniczkach.

Przyczyn naczyniowych poszukuje się w zaburzeniu funkcji autoregulacji naczyniowej na poziomie danej tkanki. Autoregulacja dokonuje się przez zmianę napięcia mięśniówki naczyń oporowych. Główną rolę w systemie regulacyjnym odgrywa warstwa komórek śródbłonna. Komórki tej warstwy, leżące na granicy dwóch ośrodków: krwionośnego i tkankowego, pełnią funkcję bariery krew-tka-

nka, otrzymują różne informacje z przylegających ośrodków, przetwarzają je i odpowiadają, uwalniając odpowiednie mediatory. Jednym z nich są endoteliny.

Z uwagi na następstwa choroby i brak dotychczas dokładnego zdefiniowanego jej patomechanizmu, wpływ liczby endotelin na patologiczne zmiany nerwu wzrokowego, mierzonych w osoczu krwi lub płynie komorowym u pacjentów z jaskrą, jest ostatnio przedmiotem badań i dyskusji (3,4,9,10,14).

Oznaczając stężenie ET-1 we krwi, trzeba pamiętać, że jest ono bardzo niewielkie – z całości wydzielanej przez śródbłonek jedynie 1/3 jest uwalniana do światła naczynia, pozostałe 2/3 pozostają przy jego ścianie. Uzyskane przez nas wyniki pomiaru poziomu ET-1 w obu grupach badanych są bardzo do siebie zbliżone, co można wytłumaczyć takim właśnie rozmieszczeniem jej w naczyniu.

Stężenie ET-1 może wzrastać jedynie miejscowo, w niektórych łożyskach naczyniowych, często pod wpływem dodatkowych bodźców, takich jak np. stres, reakcja na zimno, co potwierdził w swoich badaniach Kurihara (10), prowadzący badania na centralnym układzie nerwowym.

Prawidłowe stężenie ET-1 może również indukować skurcz naczyniowy. Zależy to od indywidualnej czułości receptorów endoteliny na jej zawartość we krwi. Jest ona odwrotnie proporcjonalna do wartości ciśnienia tętniczego (6).

Także niskie ciśnienie tętnicze może być czynnikiem zwiększającym wrażliwość receptorów. Dodatkowy skurcz naczynia przy niskim ciśnieniu tętniczym powoduje zmniejszoną perfuzję, co przy długotrwałym, wieloletnim działaniu, może być przyczyną stopniowego zaniku włókien nerwu wzrokowego. Gass (3) stwierdził, że pacjenci z jaskrą wykazywali większe zaburzenia obwodowego mikrokrążenia i bardzo zmienną reakcję na ET-1. Sugijama i wsp. (13) stwierdzili podwyższony poziom ET-1 u chorych z jaskrą niskiego ciśnienia w stosunku do pacjentów z podwyższonym ciśnieniem śródgałkowym. Niskie ciśnienie tętnicze, wysoka wrażliwość receptorów na endotelinę, zmniejszona perfuzja powodują niedokrwienie zaopatrywanej tkanki. Dawson (2) stwierdził w badaniach na tkance mózgowej, że synteza i wydzielanie ET-1 wzrastają w przebiegu niedokrwienia i powodują hipoperfuzję połączoną z dodatkowym niedokrwieniem. Analogiczna sytuacja może zachodzić w siatkówce. Endotelina-1 jest bardzo silnym peptydem zwężającym naczynia, szczególnie w stanach uszkodzenia komórek śródbłonna (5).

Na jej wydzielanie mają też wpływ różne czynniki farmakologiczne. W naszych badaniach nie zaobserwowaliśmy wpływu podwyższonej wartości endoteliny-1 na występowanie zmian charakterystycznych dla jaskry, natomiast paradoksalnie stwierdziliśmy korelację poziomu endoteliny-1 z parametrem MD w perimetrii statycznej oraz The Number w badaniu GDx u osób zdrowych. Brak takiej zależności w grupie pacjentów z jaskrą być może jest wynikiem działania leków, głównie b-adrenergicznych, powszechnie stosowanych w leczeniu jaskry, które obniżają wydzielanie endoteliny. Prawdopodobnym może być także, że wyższe poziomy endoteliny-1 u pacjentów z niewielkimi odchyleniami od normy w badaniach dodatkowych, na podstawie których nie można stwierdzić jeszcze cech neuropatii jaskrowej, mogą być grupą podwyższonego ryzyka. Obecnie wykonujemy badania z tego samego zakresu u pacjentów z nowo zdiagnozowaną jaskrą przed leczeniem i po kilkumiesięcznym stosowaniu leków. Wyniki tych badań wniosą dodatkowe informacje do podjętych dociekań.

Wnioski

W badanej grupie osób leczonych z powodu jaskry pierwotnej otwartego kąta nie stwierdzono znamiennej podwyższonej wartości endoteliny-1 we krwi. Nie stwierdzono zależności występowania zmian w perimetrii statycznej i GDx u pacjentów z POAG od poziomu endoteliny-1 we krwi.

PIŚMIENNICTWO: 1. Benigni A., Remuzzi G.: *Endothelin antagonists*. Lancet 1999, Jan. 9, 535 (9147), 133-138. 2. Dawson D. A., Sugano H., McCarron RM., Hallenbeck J. M., Spatz M.: *Endothelin receptor antagonist preserves microvascular perfusion and reduces ischemic brain damage following permanent focal ischemia*. Neurochem. Res. 1999, Dec., 24 (12), 1499-1505. 3. Gass A., Flammer J., Linder L., Romero S. C., Gasser P., Haefeli W. E.: *Inverse correlation between endothelin-1-induced peripheral microvascular vasoconstrictor and blood pressure in glaucoma patients*. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 1997 Oct., 235 (10), 634-638. 4. Haefliger I. O., Dettmann E. i wsp.: *Potential role of nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma*. Surv. Ophthalmol. 43 (Suppl. 1), June, 1999, S51-S57. 5. Joško J., Gwóźdź B., Hendryk S.: *Rola endoteliny w regulacji napięcia ścian naczyń w fizjologii i patologii*. Postępy Hig. Med. Dośw. 1997, 51 (4), 431-441. 6. Kaiser H. J., Flammer J., Graf Th., Strumfig D.: *Systemic blood pressure in glaucoma patients*. Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. 1993, 231, 677-680. 7. Kaletha K., Chodorowski Z., Dutka P., Nagel-Starczynowska G.: *Endoteliny w dekadę po ich odkryciu*. Postępy Biochem. 1999, 45 (3), 193-201. 8. Kaletha K., Chodorowski Z., Wyrzykowski B.: *Endoteliny – ich rola fizjologiczna i znaczenie kliniczne*. Przegl. Lek. 1999, 56 (12), 800-806. 9. Kim T. W., Kang K. B. i wsp.: *Elevated glutamate levels in the vitreous body of an in vivo model of optic nerve ischemia*. Arch. Ophthalmol. 2000, Apr., 118 (4), 533-536. 10. Kurihara Y., Kurihara H., Morita H. i wsp.: *Role endothelin-1 in stress response in the central nervous system*. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2000, Aug., 279 (@), R515-521. 11. Schiffrin E. L., Touyz R. M.: *Vascular biology of endothelin*. J. Cardiovasc. Pharmacol. 1998, 32 (Suppl. 3), S2-13. 12. Scotland R., Vallance P., Ahluwalia A.: *Endothelin alters the reactivity of vasa vasorum: mechanisms and implications for conduit vessel physiology and pathophysiology*. Br. J. Pharmacol. 199 Nov., 128 (6), 1229-1234. 13. Sugijama T., Morija S., Okuk H., Azumak I.: *Association of endothelin-1 with normal-tension glaucoma clinical and fundamental studies*. Surv. Ophthalmol. 1995, 39 (Suppl. 1), S49-S56. 14. Vulpis V.: *Endothelin, microcirculation and hemorheology*. Clin. Hemorheol. Microcirc. 1999, 21 (3-4), 273-276.

Przedstawiona praca jest doniesieniem wstępnym.

It is the preliminary communication.

Praca wpłynęła do Redakcji 22.07.2002 r. (131).

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

dr n. med. Elżbieta Pięnkowska-Machoy
ul. Zielona 19/4
71-013 Szczecin