

**Związek stresu oksydacyjnego z jaskrą**

## The role of oxidative stress in glaucoma

Wojciech Rokicki, Adam Kabiesz, Wanda Romaniuk

## STRESZCZENIE

Klinika Okulistyki Katedry Okulistyki  
Wydziału Lekarskiego w Katowicach  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach

Do niedawna jaskra była uważana za schorzenie wyłącznie okulistyczne. Dzisiaj wiadomo, że jest ona oczną manifestacją ogólnoustrojowych zaburzeń. Patomechanizmy występujące w jaskrze wydają się podobne do obserwowanych w pozostałych chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak np. choroba Alzheimera, gdzie obserwuje się śmierć komórek nerwowych, uszkodzenia związane z szokiem tlenowym, azotowym i odpowiedzią zapalną. Jedyny znany i potwierdzony czynnik ryzyka jaskry – podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe (CWG) nie jest ani wystarczający, ani konieczny do rozwoju i progresji jaskry. Normalizacja CWG często nie zapobiega postępowi choroby. Obserwacje związku stresu oksydacyjnego z jaskrą zdają się nie tylko nie zaprzeczać innym teoriom rozwoju jaskry (mechanicznym, naczyniopochodnym, genetycznym i immunologicznym), ale je uzupełniać. Celem pracy jest zestawienie najnowszych wyników badań nad rolą stresu oksydacyjnego w patogenezie jaskry.

## SŁOWA KLUCZOWE

jaskra, stres oksydacyjny

## ABSTRACT

Glaucoma has long been considered exclusively a disease of the eye. Today it is known that glaucoma is an ocular manifestation of systemic diseases. The pathomechanisms of glaucoma seem to be similar to those observed in other neurodegenerative disorders such as Alzheimer's disease where nerve cell death, oxidative damage and inflammatory response are observed. The one known and proved glaucoma risk factor – elevated intraocular pressure (IOP), is neither necessary nor sufficient for the development and progression of glaucoma. What is more, IOP normalization does not always prevent disease progression. The data on oxidative stress in glaucomatous disturbances seem not only to conflict other observations but rather complement the mechanical, vascular, genetic and immunologic theories of glaucoma pathogenesis. The aim of the work is a summary of the latest research on the role of oxidative stress in glaucoma.

## KEY WORDS

glaucoma, oxidative stress

## ADRES DO KORESPONDENCJI:

Dr n. med. Wojciech Rokicki  
Klinika Okulistyki Katedry Okulistyki  
Wydziału Lekarskiego w Katowicach  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach  
ul. Ceglana 35  
40-952 Katowice  
+48 531 739 739  
tel. +48 32 358 12 77  
e-mail: wojtek.rokicki@gmail.com

Ann. Acad. Med. Siles. 2014, 68, 1, 62–65  
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny  
w Katowicach  
eISSN 1734-025X  
www.annales.sum.edu.pl

## WSTĘP

Jaskra pierwotna otwartego kąta przesączania (JPOK) jest wieloczynnikową, postępującą degeneracją nerwu wzrokowego, w pierwszej kolejności obejmującą komórki zwojowe siatkówki. Uważa się, że zwyrodnienie nerwu wzrokowego w przebiegu jaskry jest wypadkową ogólnoustrojowych zaburzeń. Niemniej jednak mechanizm śmierci komórek zwojowych siatkówki wciąż pozostaje niejasny.

Do chwili obecnej nie udało się ustalić, czy śmierć komórek zwojowych następuje na drodze apoptozy, czy w wyniku procesów nekrotycznych [1]. Kontrolowany pozostaje również charakter dynamiki rozwoju i przebiegu neuropatii jaskrowej. Do dzisiaj jednoznacznie nie ustalono, czy uszkodzenia jaskrowe mają charakter przewlekły postępujący, czy ostry, różnoczasowy [2].

Najważniejszym, znanym czynnikiem ryzyka rozwoju jaskry jest podwyższone ciśnienie wewnątrzgałkowe (CWG), którego statystycznie ustalona norma to 16–21 mmHg. Często obserwowany jest proces neurodegeneracyjny mimo normalizacji CWG. Powszechnie wiadomo, że samo podwyższone CWG nie jest ani wystarczające, ani konieczne do zapoczątkowania zmian zwyrodnieniowych w obrębie nerwu wzrokowego.

Obok najczęściej weryfikowanych, na modelach zwierzęcych oraz w badaniach klinicznych, teorii niedokrwiennej, naczyniopochodnej, mechanicznej, genetycznej i immunologicznej, badana jest również teoria stresu oksydacyjnego w rozwoju jaskry.

### Stres oksydacyjny (wstrząs tlenowy)

Stres oksydacyjny to zaburzona równowaga między wytwarzaniem reaktywnych form tlenu (RFT) a ich neutralizacją – zdolnościami antyoksydacyjnymi [3]. Reaktywne cząsteczki pochodzenia tlenowego reprezentowane są przez wolne rodniki tlenowe oraz cząsteczki niebędące wolnymi rodnikami (nieposiadające niesparowanego elektronu). Produkcja RFT towarzyszy zarówno procesom fizjologicznym, jak i patologicznym [4]. Nadprodukcja RFT powoduje przesunięcie równowagi oksydacyjno-redukcyjnej w kierunku utleniania.

W warunkach fizjologicznych procesy te znajdują się pod ścisłą kontrolą organizmu, w wyniku działania enzymatycznych i nieenzymatycznych mechanizmów obronnych. Wiadomo, że RFT pośredniczą w istotnych dla komórki funkcjach, takich jak: wzrost, proliferacja, różnicowanie czy apoptoza.

Niszczące, patologiczne działanie RFT, przy ich nadprodukcji, może obejmować praktycznie wszystkie składowe organizmu, wywołując uszkodzenia na poziomie molekularnym oraz organelli komórkowych.

Reaktywne formy tlenu wywołują chemiczne modyfikacje oraz uszkadzają białka (agregacja i denaturacja), lipidy (peroksydacja), węglowodany i nukleotydy oraz wywołują zmiany w strukturze DNA, prowadzące do mutacji lub efektów cytotoksycznych [5,6].

### Stres oksydacyjny w jaskrze – pierwsze doniesienia

W latach 1981 i 1984 Alvarado i wsp. [7,8] jako pierwsi zasugerowali, iż postępująca utrata komórek utkania beleczkowego w kącie przesączania oka (*trabeculum*) u pacjentów chorujących na jaskrę może mieć związek z długotrwałym narażeniem tkanki na wolne rodniki tlenowe. Od tamtego czasu pojawiło się wiele publikacji dotyczących stresu oksydacyjnego w przebiegu jaskry, opisujących zarówno badania *in vivo*, jak i *in vitro* na modelach ludzkich i zwierzęcych.

### Związek stresu oksydacyjnego z ciśnieniem wewnątrzgałkowym

Jak wiadomo, droga odpływu cieczy wodnistej z przedniej komory oka (z początkiem w utkaniu beleczkowym) nie jest bierną przetoką, a strukturą czynnie uczestniczącą w regulowaniu ciśnienia wewnątrzgałkowego w oku. Tkanka, przez którą następuje wypływ cieczy wodnistej z przedniej komory oka, jest czynna biologicznie i może być poddawana zmianom na drodze fizjologicznej, patologicznej i farmakologicznej.

Z wiekiem utkanie komórkowe *trabeculum* maleje w sposób liniowy [7,8] o około 0,58% komórek na rok w obszarze filtrowania, co zwiększa opory odpływu cieczy wodnistej i wpływa na wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego.

Utrata komórek *trabeculum* może wzrosnąć w warunkach stresu oksydacyjnego. Wykazano, że najbardziej narażoną na uszkodzenie warstwą komórek *trabeculum* jest warstwa pozostająca w bezpośrednim kontakcie z przednią komorą oka [9]. Analiza biochemiczna cieczy wodnistej, przedniej komory oka wykazała względnie duże stężenie nadtlenu wodoru ( $H_2O_2$ ), który ma istotny wpływ na przebudowę i uszkodzenie komórek śródbłonna *trabeculum*. Kahn i wsp. [10] wykazali zależność oporu odpływu cieczy wodnistej z oka od wysokich stężeń  $H_2O_2$ .

Stres oksydacyjny uszkadza komórki śródbłonna (również występujące w *trabeculum*), a jednocześnie wzrasta wraz z ich utratą przez stan niedokrwienia oraz następującej reperfuzji, która paradoksalnie nasila uszkodzenie niedokrwienne [11,12].

Degeneracja komórek śródbłonna pochodzenia tlenowego na poziomie cytoplazmatycznym oraz DNA prowadzi do zaburzenia równowagi endotelina–tlenek azotu (NO), odpowiedzialnej m.in. za regulację napięcia kanalików utkania beleczkowego i wielkość prze-

plywu [13]. Wzrost aktywności naczynioskurczowej/kanalioskurczowej endoteliny został zaobserwowany u pacjentów z jaskrą [14]. Wydaje się, że odgrywa ona podwójnie niekorzystną rolę w patogenezie jaskry, z jednej strony wzmacnia opór odpływu cieczy wodnistej, z drugiej obniża wielkość krążenia w obrębie głowy nerwu wzrokowego [15].

Należałoby również wspomnieć, że wzmożone ciśnienie wewnątrzgałkowe samo w sobie uważane jest za czynnik uszkadzający komórki śródbłonna oraz wzmagający stres, zarówno oksydacyjny, jak i azotowy [16].

### **Związek stresu oksydacyjnego z uszkodzeniem jaskrowym**

Rola stresu oksydacyjnego w śmierci komórek zwojowych siatkówki w przebiegu neurodegeneracji jaskrowej wydaje się zjawiskiem bardziej złożonym niż zmiany w utkaniu beleczkowym kąta przesączenia.

W eksperymentalnym modelu jaskry stwierdzono znaczące podwyższenie poziomu białek siatkówki zmienionych w procesie oksydacyjnym [17]. Kolejne badania doświadczalne wykazały wzrost stanu oksydacyjnego w siatkówce, w odpowiedzi na podwyższone CWG. Interesujący wydaje się fakt, że nie tylko ostry wzrost CWG (ostra ischemia) nasila szok tlenowy, ale również przewlekłe podwyższone CWG wiązało się ze wzrostem zaburzeń oksydoredukcyjnych w komórkach siatkówki [18,19,20].

Wśród mechanizmów, które przez stres oksydacyjny mogą prowadzić do śmierci komórek zwojowych siatkówki w przebiegu jaskry, wymienia się m.in. ekscytotoksyczność kwasu glutaminowego (Glu), która prowadzi m.in. do zmian zwyrodnieniowych o charakterze nekrotyczno-apoptycznym również w obrębie siatkówki [21,22]. Stres oksydacyjny odgrywa wiodącą rolę w neurotoksyczności Glu, a sam Glu dodatkowo nasila produkcję wolnych rodników tlenowych [23].

Równoległe pojawiają się prace opisujące czynnik martwicy guza (*tumor necrosis factor  $\alpha$*  –TNF- $\alpha$ ) i jego związek ze stresem oksydacyjnym i neurodegeneracją jaskrową. Zaobserwowano zwiększoną ekspresję TNF- $\alpha$  w głowie nerwu wzrokowego i siatkówce w przebiegu jaskry [24,25]. Czynnik martwicy guza  $\alpha$ , mimo zróżnicowanego działania, został uznany za mediator śmierci komórek zwojowych siatkówki (*retinal ganglion cell* – RGC – komórki, których neuryty tworzą nerw wzrokowy) w jaskrze [26]. Śmierć komórek zwojowych w mechanizmie działania tej cytokiny przebiega przy współdziałaniu stresu oksydacyjnego [27], a wytwarzanie wolnych rodników jest częścią działania TNF- $\alpha$  [28].

Związek ze stresem oksydacyjnym wydaje się mieć również enzymatyczny szlak proapoptyczny kaspaz

(proteazy kontrolujące apoptozę). Odpowiedzią na czynniki jaskrowe jest reakcja krzyżowa między czynnikami prowadzącymi do śmierci komórek (aktywacja kaspaz oraz zaburzenia mitochondrium spowodowane stresem oksydacyjnym) a czynnikami protekcyjnymi (neurotrofyny, czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B i białka wstrząsu cieplnego). Tezel i wsp. [29] wykazali, że ograniczenie wytwarzania RFT częściowo hamuje kaspazozależną drogę śmierci komórek zwojowych siatkówki i może być traktowane jako działanie osłaniające przed neurodegeneracją. Czynnik NF- $\kappa$ B, którego rola w apoptozie komórek jest kontrowersyjna, przez jednych autorów uznawany jest za proapoptyczny, przez innych za antyapoptyczny. Niemniej jednak odgrywa on ważną rolę w procesach degeneracyjnych i immunologicznych. Stres oksydacyjny aktywuje kinazę I $\kappa$ B (IKK), co prowadzi do fosforylacji I $\kappa$ B $\alpha$  i aktywacji NF- $\kappa$ B.

Badania przeprowadzane zarówno na hodowlach komórkowych [30], jak i na modelach ludzkich [31] zgodnie wykazują, że wolne rodniki tlenowe przyczyniają się do zmian immunologicznych w obrębie gleju, które towarzyszą procesom neurodegeneracji jaskrowej. Zmiany te głównie obejmują nasilenie aktywacji komórek T oraz wzrost wydzielania TNF- $\alpha$ . Wolne rodniki tlenowe nasilają ekspresję komórek prezentujących antygen (z cząsteczkami białek MHC II na powierzchni) i zwiększają możliwość prezentacji antygeny nerwu wzrokowego i komórek glejowych.

Regulacyjna rola wolnych rodników tlenowych w prezentowaniu antygeny przez komórki glejowe zdaje się łączyć stres oksydacyjny ze zmianami immunologicznymi w neurodegeneracji jaskrowej, która głównie obejmuje komórkową odpowiedź zależną od komórek T [31], a w konsekwencji prowadzi do odpowiedzi humoralnej zależnej od komórek B [32].

Obok najczęściej przytaczanych mechanizmów prowadzących do śmierci komórek zwojowych siatkówki, co w głównej mierze stanowi istotę neurodegeneracji jaskrowej, nie można pominąć zaburzeń w obrębie komórek glejowych, które mogą być źródłem czynników neurotoksycznych, takich jak TNF- $\alpha$  i tlenek azotu, także same komórki glejowe ulegają uszkodzeniu w procesach oksydacyjnych. Zmiany te prawdopodobnie odpowiedzialne są za tzw. wtórną degenerację. Według tej hipotezy, czynnik jaskrowy, neurotoksyczny (np. wolne rodniki tlenowe) w swojej ostrej fazie uszkadza część komórek zwojowych oraz glejowych, a komórki pierwotnie nieuszkodzone narażone są na działanie patologicznie zmienionych komórek sąsiadujących, w tym komórek glejowych [33]. Sytuacja ta wydaje się tłumaczyć często obserwowany postępujący proces neuropatii jaskrowej u pacjentów, pomimo normalizacji CWG i poprawy stanu ogólnoustrojowego.

## PODSUMOWANIE

W niniejszej pracy wspomniano najczęściej badane, przypuszczalne patomechanizmy w jaskrze związane ze stresem oksydacyjnym. W świetle przytoczonej części wyników dotychczasowych badań, stres oksydacyjny wydaje się odgrywać istotną rolę w rozwoju

i postępie zaburzeń jaskrowych, pośrednio lub bezpośrednio przyczyniając się do śmierci komórek zwojowych siatkówki.

Przytoczone wyniki licznych autorów nie wykluczają teorii mechanicznej, naczyniopochodnej czy zapalnej rozwoju jaskry, a jedynie je uzupełniają i zachęcają do dalszych badań.

## PIŚMIENNICTWO

- Rokicki W., Dorecka M., Romaniuk W. Śmierć komórek zwojowych siatkówki w przebiegu jaskry – patomechanizm i potencjalne możliwości leczenia. Część I. *Klin. Oczna* 2007; 7–9.
- Singh K. Is the patient getting worse? *Open Ophthalmol. J.* 2009; 3: 65–66.
- Kołodziejczyk J., Saluk J., Wachowicz B. Stres oksydacyjny – reaktywne formy tlenu i azotu w patogenezie zaburzeń układu krążenia. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2011; 65(4): 63–69.
- Lodwich M., Romuk E., Echolc B. i wsp. Ocena wybranych parametrów równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej u dzieci chorych na astmę oskrzelową i atopowe zapalenie skóry. *Ann. Acad. Med. Siles.* 2012; 66(1): 16–23.
- Bailey M.S., Landar A., Darley-Usmar V. Mitochondrial proteomics in free radical research. *Free Rad. Biol. Med.* 2005; 38: 175–188.
- Sheu S-S., Nauduri D., Anders M.W. Targeting antioxidants to mitochondria: A new therapeutic direction. *Biochim. Biophys. Acta* 2006; 1762: 256–265.
- Alvarado J., Murphy C., Polansky J., Juster R. Age-related changes in trabecular meshwork cellularity. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1981; 21: 714–727.
- Alvarado J., Murphy C., Polansky J., Juster R. Studies on pathogenesis of primary open angle glaucoma: regional analyses of trabecular meshwork cellularity and dense collagen. In: *Recent Advances in Glaucoma*. Eds. U. Ticho, R. David, 1984, p. 3–8.
- Alvarado J., Murphy C., Juster R. Trabecular meshwork cellularity in primary open-angle glaucoma and nonglaucomatous normals. *Ophthalmology* 1984; 91: 564–579.
- Kahn M., Giblin F., Epstein D. Glutathione in calf trabecular meshwork and its relation to aqueous humor outflow facility. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1983; 24: 1283–1287.
- Siskova A., Wilhelm J. The effects of hyperoxia, hypoxia, and ischemia/reperfusion on the activity of the rat retina. *Physiol. Res.* 2001; 50: 267–273.
- Hirose F., Kiryu J., Miyamoto K. i wsp. In vivo evaluation of retinal injury after transient ischemia in hypertensive rats. *Hypertension* 2004; 43: 1098.
- Sacca` S.C., Pascotto A., Venturino G.M. i wsp. Prevalence and treatment of *Helicobacter pylori* in patients with blepharitis. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006; 47: 501–508.
- Noske W., Hensen J., Wiederholt M. Endothelin-like immunoreactivity in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma and cataract. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1997; 235: 551–552.
- Chauhan B., LeVatte T., Jollimore C. Model of endothelin-1-induced chronic optic neuropathy in rat. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004; 45: 144–152.
- Resch H., Garhofer G., Fuchsjager-Mayrl G., Hommer A., Schmetterer L. Endothelial dysfunction in glaucoma. *Acta Ophthalmol.* 2009; 87: 4–12.
- Tezel G., Yang X., Cai J. Proteomic identification of oxidatively modified retinal proteins in a chronic pressure-induced rat model of glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2005; 46: 3177–3187.
- Bonne C., Muller A., Villain M. Free radicals in retinal ischemia. *Gen. Pharmacol.* 1998; 30: 275–280.
- Ko M., Peng P., Ma M., Ritch R., Chen C. Dynamic changes in reactive oxygen species and antioxidant levels in retinas in experimental glaucoma. *Free Radic. Biol. Med.* 2005; 39: 365–373.
- Moreno M., Campanelli J., Sande P., Sanz D., Keller Sarmiento M., Rosenstein R. Retinal oxidative stress induced by high intraocular pressure. *Free Radic. Biol. Med.* 2004; 37: 803–812.
- Dreyer E., Zurakowski D., Schumer R., Podos S., Lipton S. Elevated glutamate levels in the vitreous body of humans and monkeys with glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* 1996; 114: 299–305.
- Vorwerk C., Gorla M., Dreyer E. An experimental basis for implicating excitotoxicity in glaucomatous optic neuropathy. *Surv. Ophthalmol.* 1999; 43: 142–150.
- Atlante A., Calissano P., Bobba A., Giannattasio S., Marra E., Passarella S. Glutamate neurotoxicity, oxidative stress and mitochondria. *FEBS Lett* 2001; 497: 1–5.
- Yan X., Tezel G., Wax M., Edward D. Matrix metalloproteinases and tumor necrosis factor alpha in glaucomatous optic nerve head. *Arch. Ophthalmol.* 2000; 118: 666–673.
- Yuan L., Neufeld A. Tumor necrosis factor-alpha: A potentially neurodestructive cytokine produced by glia in the human glaucomatous optic nerve head. *Glia* 2000; 32: 42–50.
- Tezel G. Oxidative stress in glaucomatous neurodegeneration: mechanisms and consequences. *Prog. Retin. Eye Res.* 2006; 25: 490–513.
- Tezel G., Yang X. Caspase-independent component of retinal ganglion cell death, in vitro. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004; 45: 4049–4059.
- Xu Y., Wu R., Gu Y., Yang Y., Yang M., Nwariaku F., Terada L. Involvement of TRAF4 in oxidative activation of c-Jun N-terminal kinase. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 28051–28057.
- Tezel G., Yang X., Yang J., Wax M. Role of tumor necrosis factor receptor-1 in the death of retinal ganglion cells following optic nerve crush injury in mice. *Brain Res.* 2004; 996: 202–212.
- Tezel G., Yang X., Luo C., Peng Y., Sun S., Sun D. Mechanisms of immune system activation in glaucoma: Oxidative stress stimulates antigen presentation by the retina and optic nerve head glia. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007; 48: 705–714.
- Yang J., Yang P., Tezel G., Patil R., Hernandez M., Wax M. Induction of HLA-DR expression in human lamina cribrosa astrocytes by cytokines and simulated ischemia. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2001; 42: 365–371.
- Wax M., Tezel G. Neurobiology of glaucomatous optic neuropathy: diverse cellular events in neurodegeneration and neuroprotection. *Mol. Neurobiol.* 2002; 26: 45–55.
- Levkovitch-Verbin H., Quigley H., Kerrigan-Baumrind L., D'Anna S., Kerrigan D., Pease M. Optic nerve transection in monkeys may result in secondary degeneration of retinal ganglion cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2001; 42: 975–982.