

AKTIVNOST SUPEROKSID DISMUTAZE I GLUTATION PEROKSIDAZE U OČNOJ VODICI BOLESNIKA S PRIMARNIM GLAUKOMOM OTVORENOG UGLA

Predrag Jovanović¹, Vidosava Đorđević², Gordana Zlatanović¹, Lilika Zvezdanović², Vladan Ćosić²

¹Klinika za očne bolesti

²Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar Niš

Kratak sadržaj: Glaukom je optička neuropatija koja se karakteriše ekskavacijom optičkog diska, ispadima u vidnom polju i, u većini slučajeva, povišenim intraokularnim pritiskom. U patogenezi primarnog glaukoma otvorenog ugla značajna uloga pripisuje se oksidativnom stresu. Cilj ove studije je bio da se utvrdi aktivnost enzima antioksidativne zaštite (superoksid dismutaze i glutation peroksidaze) u očnoj vodici bolesnika s primarnim glaukomom otvorenog ugla i bolesnika s primarnim glaukomom zbog zatvaranja komornog ugla (kontrolna grupa) pre i posle terapije egzogenim antioksidansima. Aktivnost ispitivanih enzima u očnoj vodici bolesnika sa primarnim glaukomom otvorenog ugla je značajno viša nego u očnoj vodici bolesnika s primarnim glaukomom zbog zatvaranja komornog ugla ($p < 0,001$). Egzogeni antioksidansi smanjuju koncentraciju slobodnih radikala što za posledicu ima sniženje aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i ukazuje na njihovu moguću primenu u terapiji glaukoma (kao adjuvantna terapija).

Ključne reči: primarni glaukomi, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, egzogeni antioksidansi

Uvod

Glaukom je sindromno oboljenje koje se definiše trijasom simptoma: povišenim intraokularnim pritiskom, ekskavacijom optičkog diska i paracentralnim ispadima u vidnom polju. Zahvaljujući savremenim dijagnostičkim procedurama ustanovljeno je da se radi o optičkoj neuropatiji zbog poremećene mikrocirkulacije u retini i očnom živcu. Danas postoje mnoge klasifikacije glaukoma ali je podela glaukoma na primarne, sekundarne i kongenitalne najčešće upotrebljavana kroz svakodnevnu kliničku praksu, kako u didaktičkom tako i u terapijskom smislu.

Najveći broj glaukoma pripada grupi primarnih glaukoma (70%). Njihova etiopatogeneza još uvek nije dovoljno razjašnjena a često se okrivljuju opšti poremećaji u organizmu (1). O kakvim se sve poremećajima radi i kakav je njihov mehanizam dejstva, predmet je tekućih kliničkih i eksperimentalnih istraživanja u oftalmologiji. Pored opštih poremećaja, na nastanak

jednog broja primarnih glaukoma utiče specijalna anatomska predispozicija oka. Tako je nastala podela ove grupe glaukoma na primarne glaukoma otvorenog ugla (glaucoma simplex, primary open-angle glaucoma, POAG) i primarne glaukoma zbog zatvaranja komornog ugla (glaucoma angulare, primary angle-closure glaucoma, PACG).

Oko 80% primarnih glaukoma pripada grupi simpleks glaukoma. Mehanizam nastanka angularnog glaukoma je poznat i zasniva se na zatvaranju komornog ugla i sprečavanju dolaska očne vodice do drenažnog aparata (2).

Novija naučna saznanja o glaukomu ukazuju da se objašnjenje nekih nedoumica ne može više isključivo tražiti u oftalmologiji i dodirnim oblastima medicine, već u fundamentalnim disciplinama nauke, biologije (genetike) i biohemije, što nas vodi do genetičko-molekularne definicije prirode bolesti. U tom smislu se pominje i moguća uloga slobodnih radikala, odnosno oksidativnog stresa u patogenezi primarnog glaukoma otvorenog ugla.

Slobodni radikali kao reaktivni metaboliti mogu uzrokovati bolest ili mogu delovati u sklopu kompleksnog patogenetskog mehanizma. U normalnim fiziološkim uslovima njihovo prisustvo ne znači i ispolja-

Adresa autora

Asist. mr sc. Dr Predrag Jovanović
Klinika za očne bolesti KC Niš
Braće Taskovića 48
18000 Niš

vanje toksičnih efekata zbog postojanja sistema antioksidativne zaštite (3). Narušena ravnoteža između prooksidanasa i antioksidanasa može biti važan faktor ispoljavanja određenih patoloških stanja kao što su ateroskleroza, infarkt miokarda, šećerna bolest i druge bolesti vaskularne i nevasikularne geneze (4).

Slobodni radikali su, takođe uključeni u proces nastanka različitih oftalmoloških ishemijskih bolesti, dijabetične retinopatije, uveitisa, katarakte, itd. Pojedine strukture (tkiva) oka učestvuju u stvaranju ili razgradnji (detoksikaciji) slobodnih radikala čija je uloga dokazana u patogenezi navedenih oftalmoloških bolesti bilo na mestu stvaranja ili na udaljenijem delu oka (5).

Patogeneza primarnih glaukoma otvorenog ugla i oštećenja koja se javljaju kod njih se sve češće povezuju s vaskularnim faktorom a smrt nervnih ćelija objašnjava apoptozom. U oba slučaja važnu ulogu mogu imati slobodni radikali čija se povećana produkcija reperkutuje na sistem antioksidativne zaštite.

Danas ne postoje detaljna biohemijska, patofiziološka i klinička ispitivanja koja bi dala odgovore o postojanju oksidativnog stresa i ponašanju antioksidativnih faktora kod primarnog glaukoma otvorenog ugla. Stoga je cilj ove studije bio da se utvrdi aktivnost enzima antioksidativne zaštite (superoksid dismutaze, SOD i glutathion peroksidaze, GPX) u očnoj vodici bolesnika s primarnim glaukomom otvorenog ugla i u bolesnika s primarnim glaukomom zbog zatvaranja komornog ugla (dva etiopatogenetski različita entiteta). Ovi enzimi takođe su određivani pre i posle primene egzogenih antioksidanasa, posebno zbog njihove moguće primene u lečenju primarnih glaukoma otvorenog ugla (kao adjuvantna terapija).

Materijal i Metode

Ispitivanjem je obuhvaćeno 20 bolesnika s primarnim glaukomom otvorenog ugla (POAG) i 20 bolesnika sa primarnim glaukomom zbog zatvaranja komornog ugla (PACG). Kod PACG je jasno definisan patogenetski mehanizam nastanka bolesti (mehanička blokada komornog ugla) pa su ovi bolesnici svrstani u kontrolnu grupu. Svaki od bolesnika je podvrgnut hirurškoj antiglaukomatoznoj fistulizirajućoj operaciji

na jednom oku u toku koje je uzet uzorak očne vodice u kome je određivana aktivnost superoksid dismutaze (SOD) i glutathion peroksidaze (GPX). Superoksid dismutaza je određivana kolorimetrijski, komercijalnim Randox testom (RANSOD) a glutathion peroksidaza spektrofotometrijskom UV metodom, komercijalnim Randox testom (RANSEL).

Nakon 6–8 meseci urađena je ista operacija na drugom (parnom) oku a u međuvremenu su bolesnici bili pod antiglaukomatoznom terapijom i terapijom oralnim antioksidansima (1 kapsula dnevno Oligogal-Se, Galenika). U uzorcima očne vodice je urađen isti gore navedeni antioksidativni profil a dobijeni rezultati su statistički obrađeni (Student-ov t-test).

Ispitivanja su obavljena u Klinici za očne bolesti i Centru za medicinsku biohemiju Kliničkog centra u Nišu.

Rezultati

U grupi bolesnika s primarnim glaukomom otvorenog ugla aktivnost SOD iznosila je 0,910 do 1,860 U/mL/g proteina. Prosečna vrednost SOD bila je $1,451 \pm 0,323$ U/mL/g proteina. U odnosu na kontrolnu grupu (primarni glaukomi zbog zatvaranja komornog ugla) čija je srednja vrednost aktivnosti $0,412 \pm 0,049$ U/mL/g proteina, aktivnost SOD je statistički značajno viša ($p < 0,001$, Tabela I).

Najmanja aktivnost GPX u očnoj vodici kontrolne grupe (PACG) je bila $0,510$ U/mL/g proteina a najveća $0,607$ U/mL/g proteina. Prosečna vrednost ovog enzima iznosila je $0,529 \pm 0,055$ U/mL/g proteina. U grupi pacijenata sa POAG aktivnost GPX je značajno viša ($1,328 \pm 0,093$ U/mL/g proteina) pa je zabeležena statistički visoko značajna razlika ($p < 0,001$).

Pacijenti s POAG su tokom 6–8 meseci nakon hirurške antiglaukomatozne fistulizirajuće operacije jednog oka tretirani pored antiglaukomatozne terapije i oralnim antioksidansima (Oligogal-Se). Posle toga je urađena ista vrsta operacije na drugom oku a u uzorcima očne vodice je određivana aktivnost SOD i GPX. Zabeleženo je sniženje aktivnosti ovih enzima sa statističkom značajnošću ($p < 0,05$, Tabela I).

Table I Aktivnost SOD i GPX u očnoj vodici bolesnika sa PACG i POAG pre i posle tretmana sa *Oligogal Se*

Grupe		n	SOD (U/mL/g proteina)	GPX (U/mL/g proteina)
POAG	pre Th	20	$1,451 \pm 0,323$	$1,328 \pm 0,093$
	posleTh	20	$1,392 \pm 0,217^{**}$	$1,263 \pm 0,087^{**}$
PACG	pre Th	20	$0,412 \pm 0,049^*$	$0,529 \pm 0,055^*$
	posleTh	20	$0,378 \pm 0,052^{**}$	$0,486 \pm 0,048^{**}$

Rezultati su prikazani kao $\bar{x} \pm SD$
 $^*p < 0,001$
 $^{**}p < 0,05$

Slično sniženje aktivnosti ovih enzima postoji i u grupi pacijenata sa PACG nakon istog vremenskog tretmana sa Oligogal-Se ($p < 0,05$).

Diskusija

Danas još uvek nije poznata tačna patogeneza primarnog glaukoma otvorenog ugla (POAG). Za nastajanje oštećenja koja se opisuju kod ove bolesti (ekskavacija optičkog diska i ispadi u vidnom polju) se okrivljuju dva faktora: vaskularni faktor (vaskularna teorija) i povišeni intraokularni pritisak (mehanička teorija). Vaskularna teorija ima više pristalica jer se oštećenja koja nastaju kod glaukoma sa normalnim intraokularnim pritiskom (*Glaucoma sine tensio*) ne mogu objasniti mehaničkom teorijom (6).

Po vaskularnoj teoriji patogeneze glaukoma, pre prvih oftalmoskopom vidljivih oštećenja optičkog diska (ekskavacije) i ispada u vidnom polju registrovanih kompjuterizovanom perimetrijom, postoje patološke promene na krvnim sudovima ležišta nervnih vlakana (nerve fiber layer) i malim krvnim sudovima koji ishranjuju optički disk. Te promene su dokazane najsavremenijim dijagnostičkim aparatima za merenje protoka krvi u očnom živcu u retini i histopatološkim ispitivanjima (7).

Prema Haefliger i Dettmann-u (8), NO, endotelin i slobodni radikali su odgovorni za nastanak tih promena na krvnim sudovima. Ove supstance su uključene u procese regulacije intraokularnog pritiska, lokalne modulacije protoka krvi u oku i kontrole apoptoze (smrti retinalnih ganglijskih ćelija).

U svetlu gore navedenog, antioksidativna zaštita može imati važnu ulogu u patogenezi primarnog glaukoma otvorenog ugla. Kao reakcija na povećanu aktivnost slobodnih radikala, aktivira se sistem antioksidativne zaštite. Povećana aktivnost enzima antioksidativne zaštite u očnoj vodici bolesnika sa POAG najverovatnije nastaje kao odgovor na povećanu koncentraciju slobodnih radikala u očnoj vodici i tkivima oka čija je uloga dokazana u patogenezi POAG. Enzimi antioksidativne zaštite (SOD, GPX, katalaza) učestvuju u procesu razgradnje (detoksikacije) slobodnih radikala.

Preliminarni rezultati koje smo dobili u eksperimentalnim istraživanjima pokazali su značajan porast aktivnosti antioksidativnih enzima u životinja s glaukomom. Naime, nakon izazivanja eksperimentalnog glaukoma na zečevima metodom po Gelatu (9), došlo je do značajnog porasta aktivnosti SOD i GPX u očnoj vodici u poređenju s aktivnošću ovih enzima u očnoj vodici zečeva bez glaukoma (nepublikovani rezultati). Povišena aktivnost ovih enzima verovatno nastaje kao posledica povećane koncentracije slobodnih radikala u očnoj vodici zečeva s eksperimentalnim glaukomom (10).

U svetu su retke studije koje su istraživale prisustvo slobodnih radikala i enzimskih i neenzimskih antioksidanasa kod primarnih glaukoma otvorenog ugla i uglavnom je ispitivana njihova aktivnost u serumu. Tako su Birich i sar. (11) dokazali veću koncentraciju serumskih lipidnih peroksidnih produkata kod pacijenata s primarnim glaukomom i zaključili da oni mogu biti marker bolesti ali da ne izazivaju nastanak primarnog glaukoma. Oni su tretirali svoje pacijente sa 100 mg vitamina E oralno 2 nedelje, posle čega su utvrdili sniženje lipidnih peroksida od $27 \pm 1,2\%$ ($p < 0,001$). Pri tome nisu registrovali značajno sniženje intraokularnog pritiska već poboljšanje vidnog polja. Na osnovu ovih ispitivanja, preporučili su oralnu dopunu vitaminom E kao deo antiglaukomatoznog lečenja.

Postoje eksperimentalni dokazi da SOD, GPX i katalaza učestvuju u patofiziologiji endotelinih ćelija korneoskleralnog trabekuluma u komornom uglu (12–16). U endotelu trabekularne mreže i očnoj vodici je registrovana visoka aktivnost ovih enzima koji, prema ovim autorima, imaju važnu ulogu u zaštiti trabekularne mreže od oksidativnog stresa. Dodatak egzogenih antioksidanasa u ishrani (pre svega vitamina E) ne utiče na njihovu aktivnost u očnoj vodici ali zato povećava koncentraciju glutaciona za prosečno 34%.

Suprotno ovim podacima, u obe naše ispitivane grupe bolesnika nađeno je sniženje aktivnosti enzima SOD i GPX nakon primene egzogenih antioksidanasa. Egzogeni antioksidansi smanjuju koncentraciju slobodnih radikala što za posledicu ima sniženje aktivnosti enzima antioksidativne zaštite i ukazuje na moguću primenu neenzimskih molekula antioksidativne zaštite (vitamini E i C, beta-karoten, Se, Mn, itd.) u terapiji glaukoma kao adjuvantna terapija. Značajno sniženje aktivnosti enzima SOD i GPX u kontrolnoj grupi bolesnika s primarnim glaukomom zbog zatvaranja komornog ugla (tačno određeni patogenetski mehanizam nastanka bolesti) može se objasniti smanjenjem koncentracije slobodnih radikala posle terapije sa Oligogal-Se. Naime, povećanje koncentracije slobodnih radikala postoji i kod primarnog glaukoma zbog zatvaranja komornog ugla verovatno zbog dejstva povećanog intraokularnog pritiska na tkiva u oku ali manje nego kod primarnog glaukoma otvorenog ugla, pa je i aktivnost enzima SOD i GPX u ovoj grupi skoro tri puta manja.

Bez obzira na ove kontraverze, preovladava mišljenje da aktivnost slobodnih radikala i enzima antioksidativne zaštite kod primarnog glaukoma otvorenog ugla treba određivati ali ne u krvi već u samom organu vida (očnoj vodici i tkivu retine i komornog ugla). Razjašnjenje tačnih patofizioloških mehanizama učešća slobodnih radikala i enzima antioksidativne zaštite zahteva obimnije eksperimentalno i kliničko ispitivanje.

THE ACTIVITY OF SUPEROXIDE DISMUTASE AND GLUTATHIONE PEROXIDASE IN THE HUMOR AQUOSUS OF PATIENTS WITH THE PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Predrag Jovanović¹, Vidosava Đorđević², Gordana Zlatanović¹, Lilika Zvezdanović², Vladan Ćosić²

¹*Department of Ophthalmology*

²*Centre of Medical Biochemistry, Clinical Centre, Niš*

Summary: Glaucoma is an optical neuropathy characterized by the excavation of optic disc, visual field defects and, in most cases, higher intraocular pressure. In the pathogenesis of the primary open-angle glaucoma a significant role is given to oxidative stress. The goal of this study is to determine the activity of antioxidative enzymes (superoxide dismutase, SOD and glutathione peroxidase, GPX) in humor aquosus in patients with the primary open-angle glaucoma (POAG) and in patients with the primary angle-closure glaucoma (PACG – control group) before and after the therapy with exogenous antioxidants. The activity of the examined enzymes in humor aquosus of patients with POAG is significantly higher than in humor aquosus of patients with PACG ($p < 0.001$). The exogenous antioxidants diminish the concentration of free radicals resulting in a decrease of antioxidative enzyme activities and point to their possible use in glaucoma therapy (as a complementary).

Key words: primary glaucomas, superoxide dismutase, glutathion peroxidase, exogenous antioxidants

Literatura

1. Johnson DH, Brubaker RF. Glaucoma: an overview. *Mayo Clin Proc* 1986; 61 (1): 59–67.
2. Elkington AR, Khaw PT. ABC of the eyes. The glaucomas. *BMJ* 1988; 297 (6649): 677–80.
3. Cvetković T, Pavlović D, Kocić G. Slobodni radikali – paradoksi i kontradikcije njihove funkcije. *Acta fac med Naiss* 1998; 15 (3): 125–130.
4. Đorđević BV, Pavlović DD, Kocić MG. Biohemija slobodnih radikala. Medicinski fakultet, Niš, 2000.
5. Schempp H, Elstner EF. Free radicals in the pathogenesis of ocular diseases. In: Haefliger IO, Flammer J. eds. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1998: 112–35.
6. Greve EL, Duijm FA, Geijssen CH. Risk factors in glaucoma. In: Haefliger IO, Flammer J. eds. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1998: 1–13.
7. Butt Z, O'Brien C, McKillop G, Aspinal P, Allen P. Color Doppler imaging in untreated high and normal-pressure open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38: 690–6.
8. Haefliger IO, Dettmann ES. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma: An Overview. In: Haefliger IO, Flammer J. eds. Nitric oxide and endothelin in the pathogenesis of glaucoma. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1998: 22–33.
9. Gelat K, Brooks DE, Samuelson DA. Comparative glaucomatology. II The experimental glaucomas. (Review). *J Glaucoma* 1998; 7: 282–94.
10. Alekseev VV, Ketlinski SA, Sharonov BP, Martyhova EB, Lauta VF. Lipid peroxidation in experimental glaucoma and the possibilities for its correlation (preliminary report). *Vestn Oftalmol* 1993; 109: 10–12.
11. Birich TV, Birich TA, Marchenko LN. Lipid peroxidation in the blood of primary glaucoma patients. *Vestn Oftalmol* 1986; 102: 13–15.
12. Babizhayev MA, Bunin AY. Lipid peroxidation in open-angle glaucoma. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1989; 67: 371–77.
13. Birich TV, Birich TA, Marchenko LN. Vitamin E in multiple-modality treatment of primary glaucoma patients. *Vestn Oftalmol* 1984; 102: 10–13.
14. De la Paz MA, Epstein DL. Effect of age on superoxide dismutase activity of human trabecular meshwork. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37: 1849–53.
15. Podgaonkar V, Giblin FJ, Leverenz V. Studies of H2O2 induced effects on cultured bovine trabecular meshwork cells. *J Glaucoma* 1994; 3: 123–31.
16. Russel P, Johnson DH. Enzymes protective of oxidative damage present in all decades of life in the trabecular meshwork, as detected by two-dimensional gel electrophoresis protein maps. *J Glaucoma* 1996; 5: 317–24.

Rad primljen: 14. 12. 2002.

Prihvaćen za štampu: 15. 02. 2003.