

(94)

# Wpływ estrogenów na naczynia krwionośne siatkówki oka

## The influence of the estrogens on a retinal blood vessels

Zofia Mariak<sup>1</sup>, Grzegorz Rakowski<sup>1</sup>, Jarosław Krejza<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Z Kliniki Okulistyki Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: dr hab. n. med. Zofia Mariak

<sup>2</sup>Z Zakładu Radiologii Akademii Medycznej w Białymstoku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jerzy Walecki

### Summary:

Purpose: To define the influence of the estrogens on a retinal blood vessels.

Material and methods: 20 healthy women, mean age  $23.5 \pm 1.55$  with normal laboratory investigations and with regular fundus and blood vessels appearance, participated in our study. Fundus examination was performed with fundus camera Canon NF 505 and with HRT II. The measurements were made before estrogens application (300  $\mu\text{g}$  dermal plasters) and 36 hours after the application in 4th and 6th day of a period.

Results: The difference between the size of the retinal vessels before and after estrogens application was significant in all cases. In the main branches the increase of a vessel's diameter was 4.4% to 11.22% (mean  $7.61\% \pm 3.21\%$ ),  $p < 0.05$ . The increase in a smaller branches of central retinal artery balanced from 1.2% to 9.2% (mean  $5.47 \pm 4.11\%$ ),  $p < 0.05$ .

Conclusions: Estrogens have a great vasodilatation effect on a retinal blood vessels. The level of the dilatation after the estrogens' application is about 8% in main branches and about 5% in a smaller vessels.

Słowa kluczowe: estrogeny, siatkówka, śródbłonek naczyniowy.

Key words: estrogens, retina, endothelium.

W literaturze światowej spotkać można coraz liczniejsze przekazy na temat wszechstronnego, neuroprotektynowego oddziaływania estrogenów na tkankę mózgową (5,6). Z tym spostrzeżeniem związane są ogromne nadzieje na nowe możliwości ochrony struktur nerwowych oraz ich leczenia w przebiegu różnych procesów patologicznych. Wobec utrwalonego w powszechnej świadomości przekonania, że nie ma możliwości odnawiania się i regeneracji istoty białej mózgu, rdzenia kręgowego czy nerwu wzrokowego, nowo odkryte, wielokierunkowe neuroprotektynowe właściwości estrogenów postrzegane są jako potencjalny klucz do sukcesu w dziedzinie leczenia chorób ośrodkowego układu nerwowego (OUN) (6,7,12). Siatkówka i nerw wzrokowy, stanowiące niemal integralną część mózgu, nie powinny być pomijane podczas takich badań i dyskusji. Jak dotąd nie ma jednak prac na temat wpływu estrogenów na te odrębne, lecz bliskie OUN struktury nerwowe.

Niedokrwienie siatkówki i nerwu wzrokowego stanowi przyczynę wielu groźnych chorób. Zarówno profilaktyka w tej dziedzinie, jak i leczenie procesów ischemicznych są wciąż niedoskonałe. Trwają próby poszukiwania nowych, skuteczniejszych metod terapeutycznych, co tłumaczy wzmożone zainteresowanie pozytywnym wpływem endogennych estrogenów na przepływ mózgowy (5). Takie informacje o estrogenach są o tyle ciekawe, że powszechnie wiadomo było od dawna, iż efektem działania tych hormonów jest po prostu mięśniówka macicy.

Estrogeny są żeńskimi hormonami płciowymi, powstającymi w pęcherzykach jajowych Graffa, ale spotyka się je również w korze nadnerczy czy łożysku. Najwyższe stężenie tego hormonu we krwi spotykamy u kobiet w okresie owulacji, czyli 12-14 dni przed miesiączką. Równie wysoki poziom estrogenów obserwujemy tuż przed miesiączką, tj. między 18. a 25. dniem 28-dniowego cyklu. W ciągu doby organizm kobiety może wydzielić około 220-500  $\mu\text{g}$  tego hormonu.

Estrogeny są hormonami steroidowymi, łatwo dyfundują przez błony komórkowe, wewnątrz komórki wiążą się ze swoistymi receptorami. Krążą we krwi, związane z białkami osocza, oraz w nieznacznej ilości występują w stanie wolnym. Ich rola, jak się okazuje, jest niezwykle złożona i wielokierunkowa. Powodują one wzrost perfuzji w naczyniach mózgowych nie tylko poprzez ich rozszerzanie, ale również poprzez poprawianie warunków przepływu krwi, m. in. osłabiania adhezji i agregacji trombocytów oraz hamowania przylegania krwinek białych do ścian naczyń krwionośnych (11). Działanie to, poprawiające stopień ukrwienia oraz wzbogacające tkanki w substancje odżywcze, nosi znamiona działania neuroprotektynowego, co w przypadku oddziaływania na elementy nerwowe siatkówki oka i nerwu wzrokowego nie jest bez znaczenia.

W kontekście coraz liczniejszych przekazów na temat bogatej roli neuroprotektynowej estrogenów w OUN oraz braku takich informacji w odniesieniu do siatkówki i nerwu wzrokowego, postanowiono określić, czy i jaki wpływ wywierają estrogeny na naczynia krwionośne siatkówki oka.

## Materiał i metodyka

W eksperymencie dobrowolnie wzięło udział 20 zdrowych kobiet w wieku od 22 do 25 lat ( $23,5 \pm 1,55$ ), z prawidłowymi wynikami badań laboratoryjnych oraz z prawidłowym obrazem siatkówki i jej naczyń. Kobiety te wstępnie przeszły następującą procedurę weryfikacyjną:

1. Z każdą ochotniczką przeprowadzono dokładny wywiad lekarski dotyczący schorzeń ogólnoustrojowych i chorób narządu wzroku, wykluczając ich przebycie w przeszłości. U wszystkich kobiet cykl hormonalny przebiegał fizjologicznie, żadna z nich nie stosowała hormonalnych środków antykoncepcyjnych, nie paliła papierosów ani nie nadużywała alkoholu.
2. U każdej przeprowadzono podstawowe badania laboratoryjne krwi, takie jak morfologia z rozmazem oraz poziom elektrolitów, glukozy, cholesterolu i trójglicerydów.
3. Po uprzednim rozszerzeniu źrenic wykonano u tych osób szczegółowe badanie dna oczu za pomocą aparatu Fundus Camera Canon NF 505 oraz aparatu cyfrowego HRT II.

## Przebieg doświadczenia

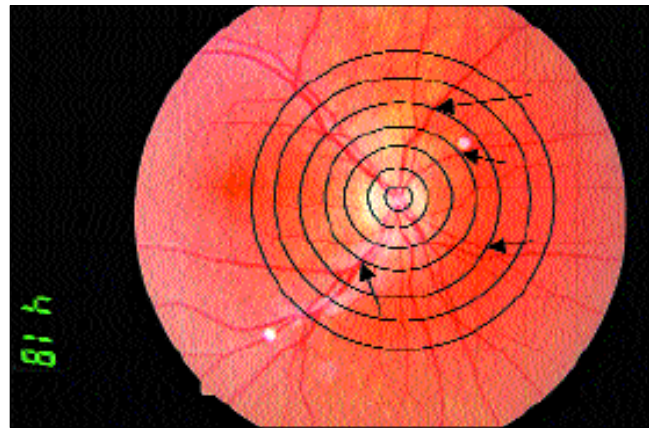
W 4. dniu cyklu o godzinie 19.00 badanym kobietom aplikowane były estrogeny w dawce 300 mikrogramów, w postaci plastrów, przyklejanych do skóry brzucha. W 4. i 6. dniu cyklu, a więc tuż przed podaniem estrogenów i 36 godzin po ich podaniu, kiedy stężenie tych hormonów osiągało poziom naturalnie spotykany przed owulacją, ochotniczki były badane okulistycznie.

## Przebieg diagnostyki okulistycznej

Ochotniczki były badane przez tego samego lekarza oraz wykwalifikowany personel medyczny o stałej porze dnia, co miało na celu osiągnięcie maksymalnej powtarzalności wyników i minimalizację błędów. Około 15-20 minut przed przystąpieniem do badania dna oka każdej ochotniczce podawano do worka spojówkowego obojga oczu 1-2 krople 0,5% Tropicamidu oraz 1-2 krople Neo-Synefryny. W oftalmoskopii stosowano powiększenie 45-krotne, oceniano obszar siatkówki w zakresie 50 stopni. Sporządzano cyfrową dokumentację fotograficzną obserwowanych struktur, na której podstawie dokonywano później obróbki i analizy komputerowej parametrów naczyniowych. U każdej z badanych wykonywano za każdym razem po 10 fotografii cyfrowych dna oczu.

By dokonać oceny średnicy naczyń, posłużono się standardami komputerowymi, opracowanymi wcześniej, gwarantującymi znaczną powtarzalność metody pomiaru. Cyfrowo przetworzone zdjęcia wprowadzano do systemu komputerowego, który służył do dokonywania odczytów dzięki stosownemu oprogramowaniu. Stworzona została tzw. aktywna matryca, zawierająca sześć współśrodkowych okręgów o promieniu rosnącym w stosunku do najmniejszego o 10, 20, 30% itd., służąca do nakładania na kolejne zdjęcia cyfrowe dna oka. Najmniejszy okrąg pokrywał się z polem tarczy nerwu wzrokowego. Tym sposobem możliwe stały się pomiary średnic naczyń w jednakowej odległości od tarczy nerwu wzrokowego, zawsze w tych samych miejscach, z zachowaniem stałego punktu odniesienia. Minimalne przesunięcia na poszczególnych zdjęciach były weryfikowane komputerowo (ryc. 1).

Bezpośrednio przed pomiarem średnic naczyniowych obrazy cyfrowe powiększono komputerowo do skali 300%, co uszczegóławiało procedurę pomiarową, nie powodując strat w rozdzielczości obrazu. W każdym z 20 badanych przypadków wykonywano 150 pomiarów kalibru głównych gałęzi skroniowych tętnicy środkowej



Ryc. 1. Obraz dna oka z naniesioną siatką współśrodkowych okręgów oraz oznaczeniem miejsc pomiaru.

Fig. 1. The image of the eye fundus with marked grid of concentric circles as well as with the sign the places of measurement.

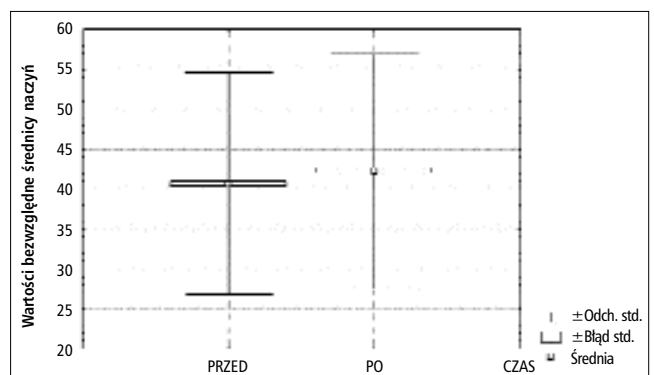
siatkówki oraz ich odgałęzień, za każdym razem uzyskując około 3000 wyników. Badanie polegało na wykonaniu sekwencji takich pomiarów przed zaaplikowaniem estrogenów i po nim.

Do wziernikowania dna oka używano, podobnie jak podczas oceny wstępnej, aparatu Fundus Camera Canon NF 505 oraz aparatu cyfrowego HRT II. Zdjęcia siatkówki wykonywano we wszystkich czterech kwadrantach obu gałek ocznych. Następnie wprowadzono je do systemu komputerowego, który umożliwiał pomiar kalibru naczyń.

Średnice kalibru naczyń, uzyskane w poszczególnych przypadkach przed podaniem estrogenów, określano umownie jako 100%. Średnice naczyniowe, uzyskiwane w drugiej turze doświadczenia, czyli po zaaplikowaniu hormonu, wyrażano również w procentach, odnosząc się zawsze do 100-procentowej wartości wyjściowej. Tak zdobyte i przetworzone wyniki poddano ocenie statystycznej, posługując się testem t-Studenta oraz testem Wilcozona dla zmiennych zależnych.

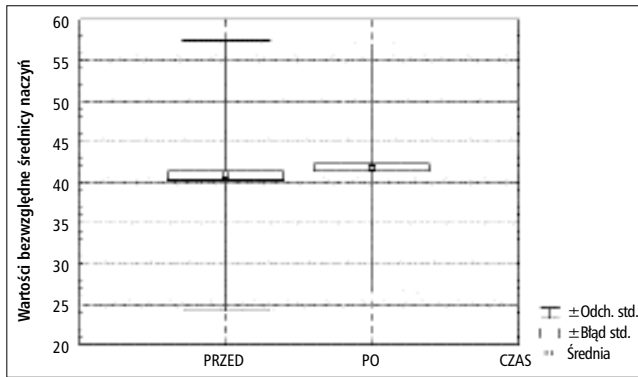
## Wyniki

Różnica pomiędzy kalibrem naczyń siatkówkowych przed zaaplikowaniem estrogenów i po nim we wszystkich przypadkach była wyraźna, dodatnia na rzecz pomiarów II tury, czyli po podaniu estrogenów. Poniżej przedstawiono wykresy ramkowe oraz statystykę opisową, zawierającą średni rozrzut wyników przed podaniem estrogenów i po nim: odchylenie standardowe, błąd standardowy oraz średnią pomiarów (ryc. 2,3,4, tab. 1).



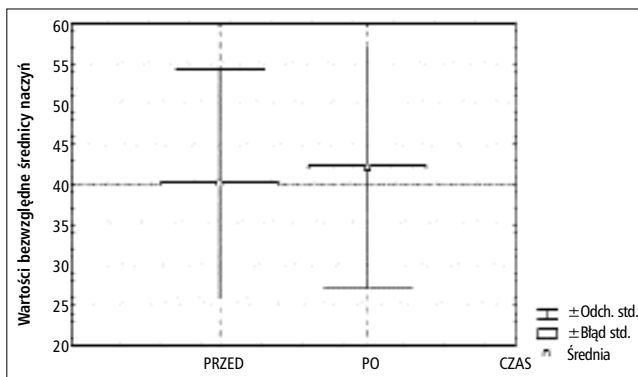
Ryc. 2. Graficzne przedstawienie różnic w kalibrze małych naczyń siatkówkowych PRZED zaaplikowaniem estrogenów i PO nim.

Fig. 2. Graphic presentation of differences in width of small retina vessels BEFORE and AFTER estrogens applications.



Ryc. 3. Graficzne przedstawienie różnic w kalibrze **głównych** naczyń siatkówkowych PRZED zaaplikowaniem estrogenów i PO nim.

Fig. 3. Graphic presentation of differences in width of **main** retina vessels BEFORE and AFTER estrogens applications.



Ryc. 4. Graficzne przedstawienie różnic w kalibrze **wszystkich** naczyń siatkówkowych PRZED zaaplikowaniem estrogenów i PO nim.

Fig. 4. Graphic presentation of differences in width of **all** retina vessels BEFORE and AFTER estrogens applications.

Różnica ta w odniesieniu do głównych pni tętniczych wynosiła od 4,2% do 11,22%, średnio  $7,61\% \pm 3,21\%$ , i nosiła znamiona istotności statystycznej ( $p < 0,05$ ). Podobną tendencję wykazywały średnice światła naczyń siatkówkowych, będących mniejszymi odgałęzieniami tych głównych naczyń. Różnica pomiędzy tymi pomiarami przed podaniem estrogenów i po nim w poszczególnych przypadkach wahała się od 1,2% do 9,42%, średnio  $5,47\% \pm 4,11\%$  ( $p < 0,05$ ). Wyniki zestawiono w tabeli II.

## Dyskusja

Pierwsze doniesienia na temat wazodilatacyjnego działania leków na naczynia siatkówkowe pochodzą już z 1891 r., kiedy to Rieger i Foster zauważyli poszerzenie tych naczyń u zwierząt jako następstwo wdychania par azotanu azylu. Leber i Deutschmann opisali podobne zjawisko u ludzi (4,8). Spostrzeżenie to stało się przyczynkiem do badań nad wpływem nitrogliceryny na kaliber naczyń siatkówki, a pionierami tego odkrycia stali się Cohen i Betman (4). Nie brakowało też w literaturze doniesień kontrowersyjnych lub wręcz sceptycznych na ten temat (1,2).

Leki rozszerzające naczynia i działające na ich poziomie można – w zależności od sposobu działania na ścianę naczyniową – sklasyfikować następująco (3,10):

- środki hamujące konwertazę angiotensyny (captopril);
- zależne od śródbłonna (acetylocholina, bradykinina, histamina);
- niezależne od śródbłonna:
  - hamujące transport  $Ca^{+2}$  do komórki mięśniowej (werapamil, nifedypina);
  - zwiększające poziom cAMP w komórkach mięśniowych (prostacyklina);
  - zwiększające poziom cGMP w komórkach mięśniowych (nitraty);
  - blokujące presynaptyczne receptory  $\alpha 1$  (prazosin).

Endogenne i egzogenne estrogeny, które ostatnio budzą tyle emocji i nadziei, trudno jest zaszeregować do którejkolwiek spośród

	Liczba pomiarów Number of meas.	Średnia Mean	Mediana Mediana	Minimum Min.	Maksimum Max.	Odchylenie standardowe Standard deviation
przed / before	2590	40,057	37,000	3,000	105,000	14,161
po / after	2590	42,099	39,000	4,000	115,000	14,981

Tab. I. Średni zakres wyników pomiarów średnic naczyniowych PRZED podaniem estrogenów i PO nim.

Tab. I. Mean dispersion of results of measurements of vessels' diameters BEFORE and AFTER estrogens applications.

	Przed podaniem estrogenów Before application of estrogens	Po podaniu estrogenów After applications of estrogens (% of achange in vessels diameter)			
		minimum min. size	maksimum max. size	średnio mean	różnica w % difference in %
główne gałęzie tśś. main branches of central retinal artery	100%	104,2%	111,22%	107,61%	7,61% $p < 0,01$
odgałęzienia dalsze tśś. small branches of central retinal artery	100%	101,2%	109,42%	105,47%	5,47% $p < 0,01$

Tab. II. Różnice kalibru naczyń siatkówkowych PRZED podaniem estrogenów i PO nim.

Tab. II. The difference of diameters of retinal vessels BEFORE and AFTER application of estrogens.

wymienionych grup, pełnią one bowiem niezwykle różnorodne i wielokierunkowe funkcje. Zgodnie z najnowszymi doniesieniami różnych autorów (5,6,7,9,12) przypisać im można następujący wpływ na dynamikę naczyń krwionośnych:

1. Hamowanie transportu jonów wapniowych do komórki na drodze aktywacji kinazy białkowej G.
2. Powodowanie wzrostu stężenia cGMP w miocytach gładkich, co pobudza aktywność endotelialnej syntazy tlenu azotu (NO), który z kolei wzmacnia aktywność cykloazy adenylowej.
3. Zwiększanie poziomu cAMP w komórkach, co aktywuje cyklooksygenazę, odpowiedzialną za produkcję prostacykliny o działaniu wazodilatacyjnym.
4. Oddziaływanie na neurony cholinergiczne, serotoninergerne, dopaminergiczne i noradrenergiczne, np. rozszerzanie naczyń poprzez osłabianie działania układu noradrenergicznego.
5. Zmniejszanie stężenia reniny, endoteliny i konwertazy angiotenzyny we krwi, co ogranicza ekspresję receptora angiotenzyny AT1 w komórkach mięśni gładkich.
6. Aktywowanie enzymu – epoksygenazy P450, odpowiedzialnego za syntezę kwasu epoksyeikozotrienowego (EET) w astrocytach, który jest bardzo silnym czynnikiem rozszerzającym naczynia w OUN.

Przytoczone dane na temat zróżnicowanych możliwości farmakodynamicznych estrogenów opierają się na doświadczeniach i obserwacjach, dotyczących układu nerwowego, przede wszystkim mózgu, oraz układu krążenia, w tym głównie serca. Nie ma, jak dotąd, w dostępnej literaturze żadnych danych na temat oddziaływania estrogenów na naczynia krwionośne innych, mniejszych struktur, w tym siatkówki oka. Przeprowadzony przez nas eksperyment stanowi pierwszą próbę w tej dziedzinie. Uwzględniając opisywane w literaturze światowej inne, bogate właściwości estrogenów, przede wszystkim te o charakterze klasycznie neuroprotektynym (5,6), można mieć nadzieję, że i w zakresie patologii siatkówki i nerwu wzrokowego można będzie w przyszłości uciec się do wykorzystania w celach terapeutycznych tego „na nowo” odkrytego hormonu.

#### Wnioski:

1. Estrogeny wywierają wazodilatacyjny wpływ na naczynia krwionośne siatkówki oka.

2. Zakres poszerzenia się naczyń po podaniu estrogenów wynosi blisko 8% w przypadku głównych pni naczyniowych oraz 5,5% w przypadku mniejszych odgałęzień tych naczyń.

#### PIŚMIENNICTWO:

1. Bryk E.: *Reakcja układu naczyniowego spojówki gałkowej i siatkówki na podawane substancje naczyniorozszerzające oraz CO*. Folia Medica Cracoviensa, 1977, 19, 485-506.
2. Bryk E.: *Reakcja układu naczyniowego spojówki gałkowej i siatkówki na podawane substancje naczyniorozszerzające stosowane przez dłuższy czas w różne miejsca*. Folia Medica Cracoviensa, 1986, 27, 9-19.
3. Danysz A., Kleinrok Z.: *Podstawy farmakologii*. Wyd. Wrocław, 1996, 420-421.
4. Duke-Elder S., Gloster J.: *The physiology of the eye-system of ophthalmology*. Mosby St. Louis, t. IV, 1960.
5. Farhar M. Y., Lavigne M. C., Ramwell P. W.: *The vascular protective effects of estrogen*. FASEB, 1996, 10, 615-624.
6. Hurn D. P., Macrae M.: *Estrogen as a neuroprotectant in stroke*. J. Cereb. Blood Flow Metab., 2000, 20 (4), 631-635.
7. Kuiper G. G. J. M., Shugrue P. J., Merchenthaler I., Gustafsson J.: *The estrogen receptor subtype: a novel mediator of estrogen action in neuroendocrine systems*. Front Neuroendocrin., 1998, 19 (4), 253-286.
8. Melanowski H.: *Dzieje okulistyki*. PZWL, Warszawa, 1972.
9. Mendelsohn M. E., Karas R. H.: *The protective effects of estrogen on the cardiovascular system*. N. Engl. J. Med., 1999, 340 (23), 1801-1811.
10. Rang H. P., Dote M. M., Ritter J. M.: *Farmakologia kliniczna*. Wyd. Czelej, Lublin, 2001.
11. Santizo R. A., Anderson S., Ye S., Koenig H. M., Pelligrino D. A.: *Effects of estrogen on leucocyte adhesion after transient forebrain ischemia*. Stroke, 2000, 31 (9), 2231-2235.
12. Tomaszewska A., Dembińska-Kieć A.: *Wpływ estrogenów na funkcje śródbłonna*. Menopauza, 2001, 111-119.

Praca wpłynęła do Redakcji 3.06.2004 r. (601).

Zakwalifikowano do druku 4.05.2005 r.

#### Adres do korespondencji (Reprint requests to):

lek. med. Grzegorz Rakowski  
Klinika Okulistyki AM w Białymstoku  
ul. M. Skłodowskiej 24a  
15-276 Białystok