

Patofiziologija endotela rožnice

Igor Petriček, dr. med.¹, Goranka Petriček, dr. med.,²

¹Klinika za očne bolesti Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Rebro

²Katedra za obiteljsku medicinu, ŠNZ "Andrija Štampar", Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Iako se sastoji od samo jednog sloja stanica, endotel rožnice od izuzetnog je značaja za njenu funkciju. Pri disfunkciji endotela destabilizira se cjelokupni metabolizam rožnice, prije svega njena hidratacija. Kako bi se mogli razumjeti poremećaji njegove funkcije, od presudnog je značaja razumijevanje patofiziologije endotela

Endotel rožnice je heksagonalno nereplicirajuće jednoslojno tkivo koje nastaje iz neuralnog grebena, te regulira stanje hidratacije strome rožnice. SLIKA 1 prikazuje presjek rožnice – endotel se nalazi kao jednostanični sloj na njenoj unutarnjoj površini. Sadrži veliku količinu membranskih Na, K, ATP-aza sa specijaliziranim unutarstaničnim svezama koje provode proces pumpanja i propuštanja u održavanju deturgescencije rožnice.

Endotel je podložan promjeni uslijed starenja, traume, sistemskih ili okularnih bolesti, nošenja kontaktnih leća, kirurških zahvata, primjene unutarokularnih otopina, te rijetkih distrofija.

Utjecaj vanjske traume te oftalmičkih i sistemskih bolesti na endotel ljudske rožnice najbolje će se razumjeti pregledom anatomije i fiziologije endotela rožnice čovjeka.

Anatomija endotela

Embriologija. *In utero*, u stadiju od 22 mm, stražnja rožnica nabrana je neuralnom krestom koja se sastoji od jednog sloja pravilno poslaganih kockastih stanica.^{1,2} U stadiju od 78 mm stanice su pljosnate te poslagane jedna na drugu. U tom stadiju neposredno ispred pljosnatog sloja nalazi se homogeni, acelularni sloj od kojeg će kasnije nastati Descemetova membrana. U stadiju razvitka od 120 mm do 165 mm jednoslojni endotel jednak je u svojoj debljini, premošćuje čitavu stražnju površinu rožnice i spaja se sa stanicama trabekularne mreže. Slično tome, Descemetova membrana postaje kontinuirana i jednolična, te se spaja s trabekularnim vlaknima. Mjesto spajanja, poznato kao Schwalbeova linija, gonioskopski je orijentir koji označava kraj Descemetove membrane i početak trabekularne mreže. Pri rođenju endotel je u prosjeku debeo 10 mikrometara.

Morfologija i razvitak. Intaktni endotel čovjeka je jednoslojan, te nalikuje na saće kada se pogleda sa strane očne vodice. Stanice se starenjem stanjuju; proces stanjivanja stabilizira se u odrasloj dobi na 4 mikrometra. Površina endotela na strani očne vodice nema površne resice; međutim, u uvjetima stražnje endotelne distrofije pojedina područja endotela sadrže površne resice i druga svojstva epitelnog tkiva. Susjedne stanice dijele opsežne postranične interdigitacije te sadrže procjepne i čvrste sveze duž svojih postraničnih staničnih granica. Postranične membrane sadrže veliku količinu mjesta za Na, K-adenozintrifosfatazu pumpe (ATPaze). Bazalna ili Descemetova strana endotelne membrane ima brojne poludezmosome koji osiguravaju vezu s Descemetovom membranom. Endotelne stanice imaju brojne mitohondrije i istaknut Golgijev aparat.

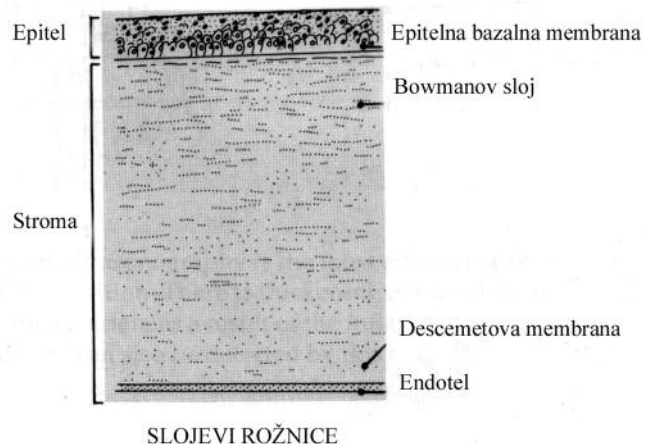
Endotel kontinuirano čitav život luči Descemetovu membranu, počevši od stadija s 8 tjedana *in utero*. Kad se pogleda elektronskim mikroskopom, dio Descemetove membrane formiran *in utero* ima izrazito isprugani izgled; taj prednji isprugani dio debeo je oko 3 mikrometra. Descemetova membrana zadebljava se starenjem te doseže debljinu do otprilike 10 mikrometara, s tim da svaka Descemetova membrana koja je nastala nakon rođenja nije isprugana te ima amorfnu strukturu kad se gleda elektronskom mikroskopom.

Tijekom života se gustoća endotelnih stanica i topografija mije-

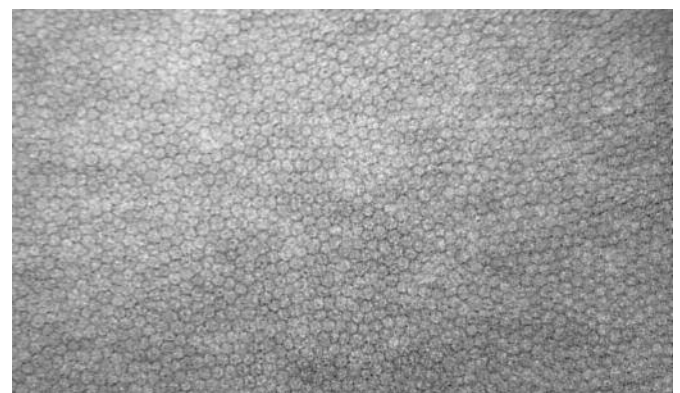
naju. Od druge k osmoj dekadi gustoća endotelnih stanica pada 3000-4000 stanica po četvornom milimetru na oko 2600 stanica po četvornom milimetru (SLIKA 2). Tijekom navedenog vremena topografija površine se mijenja – postotak heksagonalnih stanica opada sa 75% na oko 60%.

Fiziologija

Anatomija endotela idealno odgovara njegovoj primarnoj fiziološkoj ulozi regulacije hidratacije. Heksagonalni oblik stanica termodinamski predstavlja najbolji geometrijski oblik stanica, a u cilju pokrivanja površine bez pukotina i na taj način jačanja zaštitne funkcije. Ta geometrijska uredenost stanica također smanjuje prostor oko pojedine stanice na minimum, te na taj način omogućava najveći broj stanica po jedinici površine i gustoću pumpnih mjesta.



Slika 1. Slojevi rožnice



Slika 2. Endotel 18-mjesečnog djeteta

Primarno mjesto regulacije tekućina putem aktivnosti endotela je stroma rožnice. Kao rezultat navedene aktivnosti endotela stroma se održava u relativno hidratiranom stanju (sastoji se od 78% tekućine), što omogućava pravilno zaplitanje rešetke kolagenih vlakana u glikozaminoglikane i stvaranje providnog tkiva. Jedna hipoteza zastupa gledište da je ta aktivnost endotela potaknuta procesom pumpanja – propuštanja; tekućina koja izlazi iz strome rožnice slijedi razliku u osmotskom gradijentu, i to iz relativno hipoosmolalne strome k relativno hipertoničnoj očnoj vodici. Navedeno strujanje tekućine ne zahtijeva energiju. Procesi koji zahtijevaju energiju su intracelularni i membranski vezani sistemi ionskog transporta koji služe u održavanju osmotskog gradijenta. Dva najvažnija sistema ionskog transporta su membranski vezana mjesta za Na-K-ATP-azu te put karboanhidraze. Aktivnost oba ta puta osigurava strujanje mreže od strome očnoj vodici.

Granični dio endotela na neki je način jedinstven u tome da je propustan u onom stupnju koji će osigurati protok iona potreban za očuvanje ionskog gradijenta. Ta propusnost može se regulirati ovisno o količini iona kalcija. Izlaganje endotela mediju koji ne sadrži kalcij dovest će do izrazitog smanjenja u funkciji barijere.

Procjena funkcije endotela

Procjena funkcije endotela *in vivo* bazira se na mjerenju debljine rožnice i/ili promatranju jednog sloja endotela putem svjetlosne mikroskopije. Mjerenje debljine rožnice (pahimetrija) indirektno ukazuje na endotelnu funkciju jer debljina rožnice odražava stanje deturgescencije rožnice. Prosječna debljina rožnice u središtu je oko 0,5 mm, te postupno opada k periferiji na oko 0,7 mm.³ Pahimetrija se može provesti ultrazvučno ili optički.⁴ Oba postupka su reproducibilna, iako se ne mogu uvijek direktno uspoređivati. Štoviše, pahimetrija kao pokazatelj funkcije rožnice ovisna je o vremenu.

Zdrav čovjek ima ujutro, odmah nakon buđenja, lagano deblju rožnicu nego u drugom dijelu dana. Taj porast u debljini rezultat je gubitka efekta isušivanja rožnice pri otvorenom oku, kao i smanjene metaboličke aktivnosti ispod spuštenog kapka tijekom noći. Takav noćni otok pretjeran je u nefunkcionalnom endotelu, a bolesnik ga često doživljava u obliku nejasnog vida ujutro koji se tijekom dana razbistri.

Direktno promatranje svjetlosnim mikroskopom također se upotrebljava u procjeni stanja endotela. Uporabom širokokutnog svjetlosnog mikroskopa može se dobiti fotomikrograf koji se kasnije digitalizira i analizira. Te analize osiguravaju podatke koji odražavaju gustoću stanica endotela te morfologiju. Prilikom rođenja normalna rožnica prekrivena je s 3500–4000 stanica po četvornom milimetru.⁵ Ta gustoća stanica može varirati ovisno o rasi, ali u svim rasama broj stanica opada starenjem, i to otprilike 0,5% po godini. Ako ga uopće ima, mitotski potencijal endotela vrlo je mali. Točan broj stanica po četvornom milimetru koji je potreban u održanju deturgescence rožnice nije poznat, ali čini se da manje od 1000 stanica po četvornom milimetru, a na brojnim područjima rožnice, upućuje na kasniji razvitak otoka rožnice (Slika 3). Ta se pretpostavka teško može

verificirati jer nepravilni gubitak stanica dovodi do regionalne varijacije u gustoći stanica, što vodi pogreškama u uzorcima prilikom svjetlosne mikroskopije. Uz gustoće stanica, i morfologija stanica endotela može utjecati na funkciju. U usporedbi s rožnicom normalne morfologije, monoslojevi endotela s velikim razlikama u veličini stanica (polimegazitizam) te obliku stanica (pleomorfizam) nisu sposobni uspostaviti deturgescენტnu rožnicu otečenu uslijed hipoksičnog stresa (Slike 4 i 5). Dakle, i broj i oblik stanica važni su u određivanju funkcije endotela.

Tehnike pretrage funkcije endotela

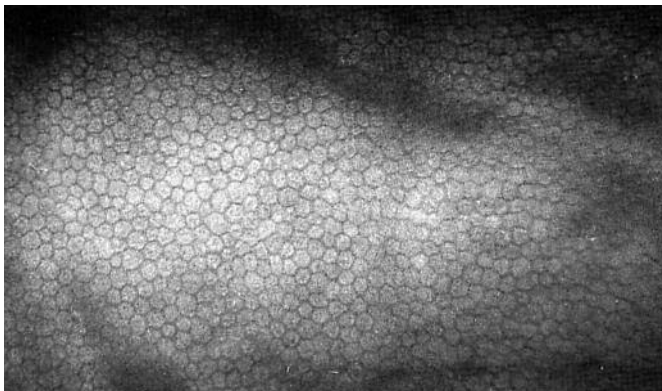
In vivo procjena endotelne funkcionalne aktivnosti može se provesti proučavanjem krivulje dobivene grafičkim prikazom produžene debljine rožnice nakon izazivanja edema rožnice hipoksijom. Ta tehnika omogućava usporedbu očiju s morfometričkim promjenama ili promjenama gustoće stanica s kontrolama koje čine oči odgovarajuće starosti. Funkcija barijere može se proučavati putem fluorofotometrije. Ovom tehnikom određuje se promjena koncentracije fluoresceinske molekule u području rožnice i očne vodice unutar određenog vremenskog razdoblja, i koristi u određivanju koeficijenta transfera koji odražava relativnu propusnost barijere između ta dva područja. Ta tehnika općenito se radije koristi u istraživačkim studijama nego u kliničkoj praksi, i to zbog trajanja eksperimenta te potrebe za brojnim fluorescence mjerenjima.

Odgovor endotela na stres

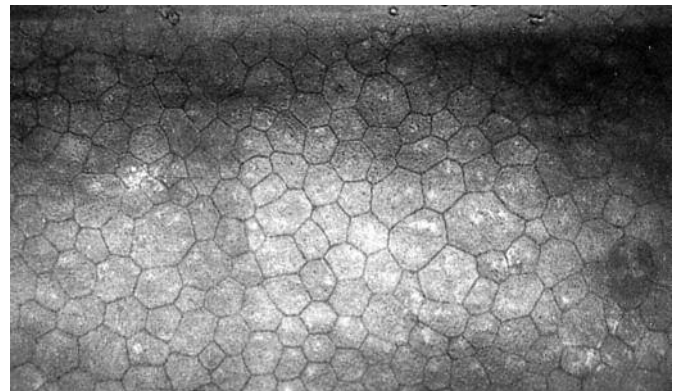
Endotel ima ograničeni odgovor na stres. Blagi stres rezultirat će u promjenama morfometrije, dok će jači dovesti do gubitka stanica kao i do morfometrijskih promjena. Vjeruje se da su morfometrijske promjene rezultat alteracije citoskeleta endotela. Izvori stresa mogu biti metabolički (hipoksija ili hiperglikemija), toksički (lijeкови ili konzervansi), promjene pH, ionizacije ili osmolarnosti, te trauma nakon operacije.

Tipičan hipoksijski stres je nošenje kontaktne leće. Sve kontaktne leće izazivaju hipoksijski stres endotela različitog stupnja. S vremenom to dovodi do morfometrijskih promjena endotela. Nošenjem kontaktne leće koeficijent različitosti veličine stanica raste, dok postotak šesterokuta pada. Ozbiljnost ovih promjena povezan je sa sastavom kontaktnih leća, duljinom nošenja te tipom kontaktnih leća. Najveće promjene nađene su u bolesnika koji su nosili polimetilmetakrilat leće tijekom više desetljeća. Manje ozbiljne promjene uočene su u drugim oblicima i tipovima kontaktnih leća. Međutim, smanjenje u gustoći stanica nije se pronašlo niti u jednom od podskupina osoba koje su nosile kontaktne leće. Morfometrijske promjene uzrokovane nošenjem kontaktne leće ne nestaju nakon prestanka nošenja leće. Fiziološki korelat promijenjenoj morfometriji potaknutoj nošenjem kontaktne leće jest proučavanje *in vivo* kojim se ustanovljava da je odgovor smanjenja edema rožnice nakon poticanja edema hipoksijom znatno manji u osoba koje nose kontaktnu leću dugo vremena u usporedbi s kontrolama iste dobi.

Drugi metabolički stres je hiperglikemija. U bolesnika koji imaju



Slika 3. Endotel 74-godišnjaka. U odnosu na sliku 1, smanjeni broj, sada većih stanica



Slika 4. Fuchsova distrofija endotela. Vidljiva polimorfija stanica



Slika 5. Edem strome rožnice kod disfunkcije endotela. Vidljive i rupturirane subepitelne ciste

šećernu bolest tip II dugo vremena koeficijent različitosti veličine stanica raste te postotak heksagona pada u usporedbi s kontrolama iste dobi. Inzulin-ovisni dijabetičari također pokazuju slične promjene. Morfometrijske promjene koje se mogu vidjeti u bolesnika oboljelih od šećerne bolesti ne dovode do promjena u propusnosti endotela ili produljenja stupnja smanjenja otoka nakon hipoksijskog stresa.

Uz nepovoljne sistemske uvjete, endotel može biti oštećen uvođenjem intraokularnih agensa tijekom operacije. Oštećenje koje izazivaju ovi agensi može biti posljedica toksičkog djelovanja samog agensa ili sredstva u kojem je otopljen. Navedeno sredstvo može sadržavati premalo osnovnih iona, biti hiper ili hipotoničko, imati prekiseo ili prealkalni pH, te sadržavati toksični konzervans.

Intraokularna operacija često dovede do oštećenja endotela. Tijekom operacije katarakte dodir endotela s mlazom tekućine za ispiranje, dijelovima nukleusa, instrumentima, te intraokularnim lećama izaziva žarišnu smrt endotelinih stanica. Oporavak tih područja odvija se procesom pomicanja stanica s okolnih neoštećenih stanica. Dolazi do trajnog smanjenja stanične gustoće te porasta veličine pojedinih stanica. Područje ozljede često sugerira mozaik nastao izduženjem stanica ili stvaranjem divovskih stanica s deset ili više strana.

Zaključak

Iz navedenog je vidljiva važnost poznavanja fiziologije endotela. Iako se radi o samo jednomo sloju stanica na unutarnjoj površini rožnice, njegova funkcija od presudne je važnosti, ne samo za funkciju rožnice, nego i za vidnu funkciju u cjelini.

Bez poznavanja principa funkcioniranja endotela ne može se procijeniti koji sve patološki čimbenici mogu utjecati na njega i na koji način, od nošenja kontaktnih leća, pa do intraoperativne traume. **M**

LITERATURA

1. Čupak i sur. Oftalmologija. Zagreb: Globus, 1994.
2. Miller SJH. Parsons' Diseases of the Eye. Eighteenth Edition. Churchill Livingstone, 1990.
3. Spalton DJ, Hitchings RA, Hunter PA. Atlas of Clinical Ophthalmology. Second Edition. Wolfe. Poglavlje 6.
4. Atta HR. Ophthalmic ultrasound- a practical guide. Churchill Livingstone, 1996; 64.
5. Kanski JJ. Clinical Ophthalmology, 3rd ed. Oxford: Butterworth-Heinemann, 1994.