



**Wydział Lekarski
z Oddziałem Stomatologii i Oddziałem Nauczania w Języku Angielskim**

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Katarzyna Powierza

**Endotelina-1 w wybranych schorzeniach narządu wzroku u dzieci i
młodzieży**

**Klinika Okulistyki Dziecięcej z Ośrodkiem Leczenia Zeza, Uniwersytet Medyczny w
Białymstoku**

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Łazarczyk

Rozprawa doktorska w oparciu o cykl publikacji naukowych
w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne

Białystok, 2021

Serdeczne podziękowania za wsparcie, pomoc i cierpliwość składam Pani
Profesor dr hab. n. med. Alinie Bakunowicz-Łazarczyk oraz mojej rodzinie.

Spis treści

1. Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej	5
2. Zestawienie publikacji doktoranta	5–6
3. Wstęp dotyczący tematyki pracy doktorskiej	7–12
4. Omówienie prac składających się na rozprawę doktorską:	
– Cele pracy	12–13
– Materiał i metody	13–15
– Wyniki	15–17
– Dyskusja	17–20
– Wnioski	21
5. Publikacje stanowiące rozprawę doktorską	22–38
6. Streszczenie:	
– Streszczenie w języku polskim	39–41
– Streszczenie w języku angielskim	41–43
7. Literatura/piśmiennictwo	43–47
8. Informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu każdego z nich oraz oświadczenie o zgodzie na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej	48

Wykaz skrótów

CRP – białko C reaktywne (C-reactive protein)

D – diopria (dioptry)

ET-1 – endotelina-1 (endothelin-1)

ETA – receptor endoteliny A (endothelin receptor A)

ETB – receptor endoteliny B (endothelin receptor B)

GCs – glikokortykosterydy (glucocorticosteroids)

IL-1 – interleukina-1 (interleukin-1)

IL-6 – interleukina-6 (interleukin-6)

IL-33 – interleukina-33 (interleukin-33)

iNOS – indukowalna syntaza tlenku azotu (inducible nitric oxide synthase)

MMD – makulopatia związana z krótkowzrocznością (myopic macular degeneration)

NO – tlenek azotu (nitric oxide)

NF- κ B – jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B (nuclear factor kappa B)

SE – ekwiwalent sferyczny (spherical equivalent)

SUN – standaryzacja nomenklatury zapalenia błony naczyniowej oka (Standardization of Uveitis Nomenclature)

ST2 – receptor supresji guzotwórczości 2 (suppression of tumorigenicity 2 receptor),

TNF- α – czynnik martwicy guza alfa (tumor necrosis factor alfa),

TS – napężenie rozciągające (tensile stress)

WSS – przyścienne napężenie ścinające (wall shear stress)

VD – rozregulowanie naczyniowe (vascular dysregulation).

VSMC – naczyniowe komórki mięśni gładkich (vascular smooth muscle cells)

1. Wykaz publikacji będących podstawą rozprawy doktorskiej

Prace oryginalne

Nr 1. Powierza K, Żelazowska-Rutkowska B, Sawicka-Powierza J, Mikołuc B, Urban B, Zaremba W, Cylwik B, Bakunowicz-Łazarczyk A. Endothelin-1 Serum Concentration is Lower in Children and Adolescents with High Myopia, a Preliminary Study. *J. Clin. Med.* 2020;9:1327. doi:10.3390/jcm9051327. Punkty: IF 4,241; MNiSW 140.

Nr 2. Powierza K, Sawicka-Powierza J, Urban B, Żelazowska-Rutkowska B, Cylwik B, Mikołuc B, Kowalewska O, Bakunowicz-Łazarczyk A. Endothelin-1 Serum Concentration in Pediatric Chronic Idiopathic Uveitis. *Clin.Ophthal.* 2021;15:157–164. doi.org/10.2147/OPHTH.S276109. Punkty: IF 0; MNiSW 100.

Łączna ilość punktów: IF 4,241; MNiSW 240.

2. Zestawienie publikacji doktoranta, zawierające liczbę publikacji, IF, punktację MNiSW

- prace włączone do rozprawy doktorskiej

1. Powierza K, Żelazowska-Rutkowska B, Sawicka-Powierza J, Mikołuc B, Urban B, Zaremba W, Cylwik B, Bakunowicz-Łazarczyk A. Endothelin-1 Serum Concentration is Lower in Children and Adolescents with High Myopia, a Preliminary Study. *J. Clin. Med.* 2020;9:1327. doi:10.3390/jcm9051327. Punkty: IF 4,241; MNiSW 140.

2. Powierza K, Sawicka-Powierza J, Urban B, Żelazowska-Rutkowska B, Cylwik B, Mikołuc B, Kowalewska O, Bakunowicz-Łazarczyk A. Endothelin-1 Serum Concentration in Pediatric Chronic Idiopathic Uveitis. *Clin. Ophthal.* 2021;15:157–164. doi.org/10.2147/OPHTH.S276109. Punkty: IF 0; MNiSW 100.

- prace, które nie zostały włączone do rozprawy doktorskiej

3. Sawicka-Powierza J, Buczkowski K, Chlabicz S, Gugnowski Z, Powierza K, Ołtarzewska AM. Quality control of oral anticoagulation with vitamin K antagonists in primary care

patients in Poland: a multi-centre study. *Kardiol Pol.* 2018;76(4):764–769.
doi:10.5603/KP.2018.0011. IF 1,674; MNiSW 15.

- streszczenia zjazdowe
4. Górská Anna, Citko Anna, Powierza Katarzyna. Prognostyczna rola kapilaroskopii w ocenie zmian naczyniowych u pacjentów z zapaleniem skórnomięśniowym. XII Konferencja Naukowo-Szkoleniowa " Wyzwania w reumatologii dziecięcej". Konferencja organizowana pod patronatem Polskiego Towarzystwa Reumatologicznego. Kazimierz Dolny, 5-7 kwietnia 2018.

Rodzaj publikacji	Liczba	Impact Factor	Punktacja MNiSW
Prace włączone do rozprawy doktorskiej	2	4,241	240
Prace, które nie zostały włączone do rozprawy doktorskiej	1	1,674	15
Streszczenia zjazdowe	1		
Razem	4	5,915	255

3. Wstęp dotyczący tematyki pracy doktorskiej

Endotelina-1 (ET-1, enothelin-1) należy do rodziny endogennych peptydów, spośród których najsilniej zwęża naczynia krwionośne [1]. Jest szeroko rozpowszechniona w tkankach ludzkich i wydzielana głównie przez naczyniowe komórki mięśni gładkich (VSMC, vascular smooth muscle cells) przede wszystkim w układzie oddechowym, ośrodkowym układzie nerwowym, hepatocytach, komórkach endometrium i nerek.

W wyniku działania peptydazy z preprolipeptydu powstaje proendotelina-1, z której przy udziale przyściennego naprężenia ścinającego (WSS, wall shear stress) i enzymu konwertującego endotelinę, dochodzi do powstania aktywnego peptydu ET-1 [2]. Poza bodźcem mechanicznym, czynnikami stymulującymi produkcję i wydzielanie endotelin są: niedotlenienie, trombina, insulina, cyklosporyna, epinefryna, angiotensyna II, kortyzol i mediatory zapalenia. Z kolei inhibitorami produkcji i wydzielania endotelin są: tlenek azotu (NO, nitric oxide), prostacyklina, heparyna i peptydy natriuretyczne (mózgowy i przedsionkowy) [3].

ET-1 działa poprzez wiązanie się z receptorami endotelin A (ETA) i B (ETB), dwoma powierzchniowymi białkami komórek, które należą do nadrodziny receptorów sprzężonych z białkiem G. Oba te receptory wywołują różne efekty w zależności od podtypu endoteliny z którą się wiążą. Powinowactwo wiązania ET-1 do ETA jest większe niż ET-2 i ET-3, podczas gdy wszystkie podtypy endotelin mają równe powinowactwo do wiązania się z receptorem ETB [4]. Receptory ETA znajdują się głównie w VSMC, gdzie są odpowiedzialne za silne zwężenie naczyń, proliferację komórek i działanie prozapalne. Receptory ETB obejmują dwa podtypy: ETB1, które ulegają ekspresji na powierzchni komórek śródbłonna a ich aktywacja stymuluje uwalnianie NO, substancji silnie rozszerzającej naczynia krwionośne; oraz ETB2, obecne w VSMC, których stymulacja wywołuje skurcz naczyń [5, 6]. Nadmiar endotelin powoduje przewlekły skurcz naczyń krwionośnych oraz nadmierne namnażanie się komórek śródbłonna, w wyniku czego dochodzi do pogrubienia się ich ściany, zmniejszenia ich przekroju i elastyczności oraz zmniejszenia wrażliwości na czynniki rozkurczające. Wykazano także, że ET-1 przyczynia się do rozwoju procesów zapalnych w ścianie naczyniowej. Odpowiedź zapalna ET-1 obejmuje aktywację czynników transkrypcyjnych jak jądrowy czynnik transkrypcyjny kappa B (NF- κ B, nuclear factor kappa B) i zwiększoną produkcję cytokin prozapalnych, w tym czynnika martwicy guza alfa (TNF- α , tumor necrosis factor alfa), interleukiny-1 (IL-1) i interleukiny-6 (IL-6) [7, 8]. One z kolei mogą stymulować produkcję ET-1 [9].

W gałce ocznej endoteliny ulegają ekspresji w takich tkankach jak nabłonek rogówki, astrocyty nerwu wzrokowego, ciało rzęskowe, komórki siateczki beleczkowej, a także na komórkach śródbłonna naczyń siatkówki i naczyńniówki [10]. ET-1 moduluje kurczliwość perycytów regulując przepływ krwi w naczyniach siatkówki i naczyńniówki [11] oraz bierze udział w regulacji ciśnienia wewnątrzgałkowego i dynamice odpływu cieczy wodnistej [12].

ET-1 we krwi człowieka ma niskie stężenie od 0,7 do 5,0 pg/mL [13, 14] i charakteryzuje się bardzo krótkim okresem półtrwania - około 7 minut. Niskie stężenie we krwi wynika z jej aktywnego wychwytu przez receptory obecne na komórkach śródbłonna i z wysokiej aktywności enzymu rozkładającego endotelinę. W wątrobie i nerkach ET-1 jest rozkładana przy współdziałaniu proteaz degradujących, w tym endopeptydazy [15]. Natomiast w płucach łączy się z receptorem ETB i ulega internalizacji a następnie degradacji [16–18]. W stanach zapalnych ET-1 może być eliminowana przez leukocyty i ich enzymy, np. katepsynę G [19]. Tak więc stężenie ET-1 we krwi zależy od wielu czynników, takich jak synteza, połączenie z receptorami i eliminacja z organizmu [20].

Na ścianę naczynia krwionośnego działają dwie siły biomechaniczne: naprężenie rozciągające (TS, tensile stress) oraz WSS zwane również naprężeniem stycznym lub tnącym. TS skierowane jest prostopadle do ściany naczynia i oddziałuje na wszystkie warstwy ściany naczyniowej. Siła ta jest wprost proporcjonalna do ciśnienia tętniczego krwi i promienia wewnętrznego naczynia, a odwrotnie proporcjonalna do grubości ścian naczyń. Natomiast WSS jest siłą, która jest styczna do długiej osi naczynia i działa głównie na komórki wyściełające ściany naczyń, i jest proporcjonalna do prędkości przepływu i lepkości krwi, a odwrotnie proporcjonalna do promienia naczynia.

W badaniach wykazano zmniejszoną prędkość przepływu krwi w naczyniach siatkówki u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością [21–25]. W wyniku tego może dochodzić do zmiany przyściennego naprężenia ścinającego, które jest niezbędne do wytworzenia aktywnej ET-1 [2]. Fizjologiczna wartość WSS w tętnicach mieści się w przedziale od około 15 dyn/cm² do 70 dyn/cm², natomiast w żyłach jest ona znacznie mniejsza. Jego prawidłowe wartości działają ochronnie na śródbłonek naczyniowy i stymulują produkcję substancji rozszerzających naczynia, jak NO czy prostacyklina. Śródbłonek naczyniowy reaguje na bardzo małe zmiany WSS [26]. Przy wartości WSS mniejszej niż 10 dyn/cm² dochodzi do dysfunkcji i pogrubienia śródbłonna. Gdy wartość ta wzrasta powyżej 70 dyn/cm², na przykład w dużym zwężeniu naczynia jaki występuje w miażdżycy, sprzyja ona powikłaniom zakrzepowym poprzez nasilenie aktywacji płytek krwi [27].

Ilość krwi potrzebna w różnych narządach i tkankach różni się i jest osiągnięta poprzez dostosowanie ciśnienia perfuzji i miejscowego oporu przepływu. Przepływ krwi w różnych częściach gałki ocznej jest regulowany w inny sposób [28]. Oko jest zasilane przez dwa układy naczyniowe: naczynia siatkówki i błony naczyniowej. Przepływ krwi w siatkówce charakteryzuje się małą prędkością, wysokim oporem naczyniowymi wysoką ekstrakcją tlenu przez tkanki. Z kolei przepływ krwi w naczyniach błony naczyniowej charakteryzuje się dużą prędkością, niskim oporem naczyniowym i niską ekstrakcją tlenu przez tkanki. Jeżeli regulacja krążenia krwi nie jest dostosowana do potrzeb danej tkanki to stan taki określany jest jako rozregulowanie naczyniowe (VD, vascular dysregulation). Odgrywa ono znaczącą rolę w patogenezie zapalenia błony naczyniowej oka [29].

Krótkowzroczność jest jedną z najczęstszych chorób okulistycznych na świecie. Badania wskazują na wysoki wskaźnik jej występowania wśród dzieci w wieku szkolnym w Azji Wschodniej (73%) i Ameryce Północnej (42%) w porównaniu do Afryki i Ameryki Południowej, gdzie wskaźnik ten wynosi poniżej 10% [30]. Jest to choroba o wieloczynnikowej etiologii, a wiele badań potwierdziło, że występowanie i nasilenie krótkowzroczności wynika z wzajemnego oddziaływania czynników genetycznych i środowiskowych [31, 32]. Do czynników środowiskowych zwiększających ryzyko wystąpienia krótkowzroczności u dzieci w wieku szkolnym zaliczane są: ograniczony czas przebywania na świeżym powietrzu, słabe oświetlenie, używanie lamp LED do odrabiania lekcji, niewystarczająca ilość snu, odległość czytania poniżej 25 cm oraz życie w środowisku miejskim [30].

Krótkowzroczność jest wadą wzroku, w której wyraźnie widać obiekty z bliska, podczas gdy obiekty bardziej oddalone wydają się zamazane. Promienie świetlne skupiają się w punkcie przed siatkówką, a nie bezpośrednio na jej powierzchni. Wyróżniamy krótkowzroczność osiową, refrakcyjną oraz refrakcyjno-oskową. W większości przypadków występuje krótkowzroczność osiowa, w której gałka oczna wydłuża się zbyt mocno w stosunku do zdolności skupiającej układu optycznego oka. Prawidłowa długość gałki ocznej u noworodka wynosi 16–17 mm i wzrasta szybko do ukończenia 2 roku życia, a następnie wzrasta wolniej aż do końca wieku dojrzewania. Gałka oczna po zakończeniu wzrostu osiąga długość około 24 mm. Rzadziej krótkowzroczność może być spowodowana zbyt silnym załamywaniem promieni przez układ optyczny oka w stosunku do długości gałki ocznej jako wynik zbyt wypukłej powierzchni rogówki lub soczewki i wtedy określana jest jako

krótkowzroczność refrakcyjna. W przypadku połączenia powyższych czynników mamy do czynienia z krótkowzrocznością refrakcyjno-osiową [31, 32].

Krótkowzroczność możemy podzielić ze względu na czas powstania wady, czyli na wrodzoną i nabytą. Wrodzona uwarunkowana jest genetycznie i ujawnia się we wczesnym dzieciństwie i postępuje nawet do 24–30 roku życia. Wraz z wiekiem progresja wady zmniejsza się, ale osiąga ona w sumie wysokie wartości, czasami nawet do $-20,0$ dioprii (D, diopter). Krótkowzroczność nabyta pojawia się około 9–10 roku życia i stabilizuje się po okresie dojrzewania. Jej powstawanie i dynamika zależne są głównie od czynników środowiskowych. Wadę tę ma coraz więcej dzieci w coraz młodszym wieku, już od 6 do 8 roku życia. Opisywana jest też tzw. krótkowzroczność dorosłych, która rozpoczyna się około 20 roku życia, a jej przyczyną jest wzmożona praca wzrokowa do blizy [33–36].

Podział zaawansowania krótkowzroczności nie jest jednakowy na świecie. W Polsce dzieli się ją na krótkowzroczność małą do $-4,0$ D, średnią powyżej $-4,0$ do $-8,0$ D i wysoką powyżej $-8,0$ D; w USA, małą określa się do $-3,0$ D, średnią od $-3,25$ do $-6,0$ i wysoką powyżej $-6,0$ D.

W dostępnej literaturze wysoka lub patologiczna krótkowzroczność najczęściej definiowana jest jako ekwiwalent sferyczny wady (SE, spherical equivalent) $\geq -6,0$ D lub długość gałki ocznej $\geq 26,0$ lub $\geq 26,5$ mm [37–39]. Ma ona najczęściej podłoże genetyczne. W krótkowzroczności z SE wady $> -6,0$ D i długością gałki ocznej > 26 mm dochodzi do nadmiernego wydłużenia się gałki ocznej, twardówka i naczyniówka ulegają ścięczeniu i rozciągnięciu. W wyniku tych zmian powstają zmiany zwyrodnieniowe twardówki, siatkówki, błony naczyniowej oraz tarczy nerwu wzrokowego, a taka krótkowzroczność określana jest jako zwyrodnieniowa lub degeneracyjna [40].

Zmiany zwyrodnieniowe siatkówki w krótkowzroczności degeneracyjnej dzieli się na dwie grupy ze względu na konsekwencje kliniczne: łagodne zwyrodnienia obwodowe oraz zwyrodnienia drobnotorbielowate i szkliskowo-siatkówkowe predysponujące do powstawania dziur lub przedarć siatkówki. Zmiany zwyrodnieniowe w plamce żółtej określane są jako makulopatia związana z krótkowzrocznością (MMD, myopic macular degeneration) i prowadzą do nieodwracalnego zniszczenia fotoreceptorów i utraty centralnego widzenia [41]. Tarcza nerwu wzrokowego jest duża i koreluje z wielkością wady. Często otacza ją półksiężycowaty zanik naczyniówkowo-siatkówkowy zwany „sierpem” lub „stożkiem” krótkowzrocznym. Taki rodzaj krótkowzroczności prowadzi do poważnych powikłań jak jaskra, odwarstwienie siatkówki, zwyrodnienie plamki żółtej i ślepoty [42–44].

Błona naczyniowa wyściela wnętrze oka i znajduje się między twardówką a siatkówką. W jej skład wchodzi tęczówka, ciało rzęskowe i naczyniówka, a główną rolą jest odżywienie i zaopatrzenie w tlen siatkówki. W badaniu populacyjnym przeprowadzonym w Wielkiej Brytanii i Finlandii stwierdzono, że roczna zapadalność na zapalenie błony naczyniowej oka wynosiła odpowiednio 3,5 do 4,3 na 100, 000 dzieci [45, 46].

W klasyfikacji zapalenia błony naczyniowej gałki ocznej brana jest pod uwagę anatomiczna lokalizacja, etiologia oraz czas trwania choroby (zapalenia ostre, nawracające i przewlekłe). Ze względu na kryterium anatomiczne wyróżnia się zapalenie przedniego odcinka gałki ocznej a mianowicie tęczówki, części pośredniej czyli ciała rzęskowego, oraz części tylnej czyli naczyniówki. Może również dojść do zapalenia całej błony naczyniowej, w której procesem zapalnym objęte są wszystkie części błony naczyniowej oka [47, 48].

Czynniki wywołujące zapalenie błony naczyniowej mogą być zakaźne i niezakaźne. Do zakaźnych należą bakterie, wirusy, grzyby, pasożyty lub pierwotniaki. Wśród czynników niezakaźnych wyróżniamy procesy autoimmunologiczne w przebiegu chorób układowych oraz miejscowe stany chorobowe, np. uszkodzenie chemiczne lub uraz. Układowe choroby reumatologiczne w przebiegu których może występować zapalenie błony naczyniowej oka u dzieci obejmują: młodzieńcze idiopatyczne zapalenie stawów, zespół Blaua/młodzieńczą sarkoidozę i chorobę Behçeta [49–53]. W części przypadków nie udaje się określić etiologii zapalenia i określa się je wówczas jako zapalenie idiopatyczne.

Choroba może mieć początek ostry lub podostry. Ze względu na przebieg kliniczny rozróżnia się zapalenia ostre, które trwa krócej niż 3 miesiące (ma nagły początek i ograniczony czas trwania), nawracające (cechuje się okresami remisji z okresami bez leczenia trwającymi ≥ 3 miesiący) lub przewlekłe (uporczywe zapalenie trwające > 3 miesiący z nawrotem < 3 miesiący po zakończeniu leczenia) [54].

W zapaleniu błony naczyniowej oka dochodzi do uszkodzenia bariery krew-ciecz wodnista i krew-ciało szkliste. W badaniu dna oka można zaobserwować żółte lub białawe puszyste otoczki wzdłuż ścian naczyń.

W ostrym zapaleniu błony naczyniowej gałki ocznej najczęściej obserwuje się nagły ból i zaczerwienienie oka, światłowstręt, zwężenie źrenicy, nastrzyk rzęskowy i nagłe pogorszenie ostrości wzroku. Dochodzi do szybkiego, krótkotrwałego zwężenia naczyń, a następnie do przedłużonego ich rozszerzenia, w wyniku czego zwiększa się przepuszczalność śródbłonna naczyń włosowatych a ruch płynu do przestrzeni pozanaczyniowej powoduje powstanie obrzęku.

W przeciwieństwie do ostrego zapalenia, w postaci przewlekłej tej choroby objawy są znacznie mniej nasilone. Początek choroby jest podstępny, pacjent nie ma objawów a zmniejszenie ostrości widzenia następuje zwykle powoli. Forma przewlekła zapalenia może wystąpić po ostrej postaci lub od początku mieć mało nasilone objawy. Ten typ zapalenia charakteryzuje się jednoczesnym niszczeniem tkanek przez proces zapalny a następnie ich wtórną naprawą, w wyniku czego dochodzi do włóknienia i tworzenia ziarniniaków, prowadzących do uszkodzenia tkanek oka.

Następstwem nieleczzonego zapalenia błony naczyniowej oka są takie powikłania jak: zaćma, torbielowaty obrzęk płamki, jaskra, odwarstwienie siatkówki, co z kolei może prowadzić do nieodwracalnej utraty wzroku [54].

4. Omówienie prac składających się na rozprawę doktorską

Cel pracy

Roldan-Pallares M i wsp. wykazali, że stężenie ET-1 w cieple szklistym dodatnio korelowało ze stężeniem ET-1 w osoczu pacjentów z odwarstwieniem siatkówki i z proliferacyjną witreoretionopatią [55]. Na tej podstawie wysunęliśmy wniosek, że oznaczając stężenie ET-1 w osoczu lub surowicy pacjenta można wnioskować o jej stężeniu i znaczeniu w gałce ocznej. Jak dotąd, naukowcom nie udało się zidentyfikować cząsteczki wspólnej dla wszystkich szlaków metabolicznych, która mogłaby być stosowana w leczeniu i hamowaniu progresji krótkowzroczności.

U pacjentów z chorobą Behçeta z współwystępującym zapaleniem błony naczyniowej oka stwierdzono istotnie wyższe stężenie ET-1 w porównaniu do pacjentów bez zapalenia błony naczyniowej oka [56]. W badaniach na modelach zwierzęcych, w których indukowano zapalenie błony naczyniowej oka również wykazano wyższe stężenie ET-1 [57–59]. Nie ma natomiast doniesień na temat stężenia ET-1 w idiopatycznym zapaleniu błony naczyniowej oka, a szczególnie u dzieci.

Na tej podstawie postawiliśmy hipotezę, że stężenie ET-1 może być zmienione w wysokiej krótkowzroczności i w zapaleniu błony naczyniowej oka. Celem pierwszego badania była ocena stężenia ET-1 we krwi u dzieci i młodzieży z wysoką krótkowzrocznością oraz jego związku z długością gałki ocznej i obecnością zmian zwyrodnieniowych w siatkówce. Celem drugiego badania była ocena stężenia ET-1 we krwi dzieci i młodzieży z

przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka oraz jego związku z anatomiczną lokalizacją i stopniem nasilenia zmian zapalnych w oku.

Material i metody

Uczestnicy

Przeprowadzono dwa badania przekrojowe u dzieci i młodzieży, które były rekrutowane w Klinice Okulistyki Dziecięcej z Ośrodkiem Leczenia Zeza, Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku. Do badania **Nr 1** włączono 57 dzieci i młodzieży rasy białej (31 dziewcząt, 26 chłopców) ze średnią wieku $14 \pm 2,7$ lat, w wieku od 7 do 17 lat z wysoką krótkowzrocznością zdefiniowaną jako SE wady $\geq -6,0$ D oraz 29 osób zdrowych (17 dziewcząt, 12 chłopców) ze średnią wieku $13,2 \pm 3,1$ lat, od 7 do 17 lat, dobranych pod względem wieku i płci. Do badania **Nr 2** zrekrutowano 17 dzieci i młodzieży rasy białej (7 dziewcząt i 10 chłopców) w wieku 5–17 lat (średnia wieku $12,3 \pm 4,3$ lat) z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka oraz 22 zdrowych dzieci ze średnim wiekiem $11,6 \pm 4,5$ lat, dobranych pod względem wieku (4–17 lat) i płci. Ciśnienie wewnątrzgałkowe u wszystkich uczestników badania było prawidłowe i mieściło się pomiędzy 14 a 18 mmHg. Wszystkie osoby z grupy kontrolnej miały pełną ostrość wzroku i nie wymagały korekty.

Kryteria wykluczenia stanowiły wszelkie ogólnoustrojowe choroby zapalne, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, choroby nerek, choroby tarczycy, pozostałe choroby przedniego lub tylnego odcinka oka lub stosowanie jakichkolwiek leków ogólnoustrojowych lub witamin w chwili badania.

W przypadku pacjentów z wysoką krótkowzrocznością kryterium włączenia do badania była krótkowzroczność z SE wady $\geq -6,0$ D. Obwodowy zanik naczyńkowsiatkówkowy stwierdzono u 11 dzieci z wysoką krótkowzrocznością z błędami refrakcji od $-8,0$ do $-17,0$ D.

W przypadku pacjentów z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka kryterium włączenia do badania było rozpoznanie choroby na podstawie wywiadu, badania okulistycznego, reumatologicznego oraz po wykluczeniu wszelkich możliwych etiologii zapalenia. Wszyscy pacjenci z zapaleniem błony naczyniowej oka byli już w przeszłości leczeni glikokortykosterydami (GCs, glucocorticosteroids). Najlepiej

skorygowana ostrość wzroku dzieci ze stanem zapalnym oka mieściła się w zakresie od 0,7 do 0,9.

Rodzice lub prawni opiekunowie oraz uczestnicy badania powyżej 16 roku życia podpisali pisemną świadomą zgodę na udział w badaniu, po wyjaśnieniu celu projektu i oczekiwanych wyników. Badanie przeprowadzono zgodnie z Deklaracją Helsińską dotyczącą badań medycznych z udziałem ludzi. Protokół badania i procedury zostały zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku (nr R-I-002/144/2019).

Metody badawcze

Od pacjentów pobrano krew z żyły łokciowej po 30 minutach odpoczynku w pozycji siedzącej. Surowicę oddzielono poprzez natychmiastowe odwirowanie krwi przy prędkości 1500 x g przez 10 min w temperaturze pokojowej. Wszystkie próbki surowicy zebrano i przechowano w temperaturze -80°C do momentu wykonania oznaczeń laboratoryjnych.

U wszystkich pacjentów i dzieci z grupy kontrolnej wykonano badanie okulistyczne, które obejmowało skorygowany pomiar ostrości wzroku za pomocą tablic Snellena, pomiar ciśnienia wewnątrzgałkowego za pomocą TonoPenu, badanie w lampie szczelinowej oraz badanie dna oka za pomocą soczewki Volk. Wadę refrakcji określono po zastosowaniu 1% Tropikamidu, wpuszczonego trzykrotnie w odstępach po 15 minut, TONOREF™ Nidek's Auto Ref/Kerato/Tono/Pachymeter.

Wszystkie pomiary biometrii u dzieci z wysoką krótkowzrocznością wykonano za pomocą aparatu A scan Quantel Medical AVISO.

U pacjentów z zapaleniem błony naczyniowej oka, w trakcie badania okulistycznego obejmującego badanie lampą szczelinową oraz badanie dna oka, oceniano: ilość komórek zapalnych w przedniej komorze, natężenie wysięku w przedniej komorze i w ciele szklistym oraz zmiany zapalne w siatkówce i naczyniówce, które sklasyfikowano zgodnie z kryteriami Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) i National Eye Institute [47, 60, 61].

Stężenie ET-1 w surowicy wykonano metodą testu immunoenzymatycznego ELISA Endothelin-1 Immunoassay (R@D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA). Do 96-dołkowej mikropłytki z opłaszczonymi przeciwciałami monoklonalnymi specyficznymi dla ET-1 pipetowano wzorce i próbki surowicy pacjentów. Obecna w próbkach pacjentów ET-1 wiązana była przez unieruchomione przeciwciała. Po wypłukaniu wszystkich niezwiązanych białek, do studzienek dodano przeciwciało monoklonalne sprzężone z enzymem specyficznym dla ET-1. Po kolejnym przepłukaniu płytki, w celu usunięcia niezwiązanego

odczynnika enzymatycznego, do dołków dodano roztwór substratu (peroksydazy chrzanowej). Enzym spowodował zabarwienia w studzienkach płytki proporcjonalnie do stężenia ET-1 związanej w początkowym etapie. Wyniki obliczono na podstawie krzywej standardowej i wyrażono w pg/mL. Czulość testu wynosiła 0,207 pg/mL. Odczyty wykonano przy użyciu czytnika mikroplętek ELISA (ANTHOS, Wals/Salzburg, Austria) przy wartości absorbancji 450 nm.

Stężenie białka C reaktywnego (CRP, C-reactive protein) w surowicy pacjentów z zapaleniem błony naczyniowej oka było wykonane metodą immunoturbidymetryczną przy użyciu zestawu odczynników CRP4 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Niemcy).

Metody statystyczne

Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu STATISTICA wersja13. Normalność rozkładu zmiennych sprawdzono testem Shapiro-Wilka. Dane nie miały rozkładu normalnego. Cechy jakościowe przedstawiono w postaci liczb i procentów, a parametry ilościowe jako średnią i odchylenie standardowe lub mediany i kwartyle. Strukturę podgrup w zależności od płci i grup wiekowych porównano testem chi-kwadrat Pearsona. Do porównania analizowanych mierzalnych parametrów zastosowano test U Manna-Whitneya. W celu oceny różnic w stężeniu ET-1 pomiędzy kilkoma podgrupami pacjentów z zapaleniem błony naczyniowej oka wykorzystano test ANOVA rang Kruskala-Wallisa, a porównanie post-hoc przeprowadzono przy użyciu testu Tukeya. Korelacje pomiędzy badanymi parametrami oceniano korelacją rang Spearmana. Różnice w badanych parametrach i korelacje były uznane za istotne przy $p < 0,05$.

Wyniki

W badaniu **Nr 1** nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy dziećmi z wysoką krótkowzrocznością a grupą kontrolną w zakresie wieku ($p = 0,181$), płci ($p = 0,709$) i grup wiekowych ($\leq 13 / > 13$ lat) ($p = 0,691$). Stwierdzono natomiast istotnie niższe stężenie ET-1 u dzieci z wysoką krótkowzrocznością w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,47 (0,91; 1,87) vs 1,94 (1,1; 2,69) pg/mL, $p = 0,005$).

W grupie dzieci z wysoką krótkowzrocznością jak i w grupie kontrolnej, nie zaobserwowano korelacji pomiędzy stężeniem ET-1 a wiekiem (odpowiednio: $r = 0,124$, $p = 0,364$; $r = 0,069$, $p = 0,772$).

W grupie 57 dzieci z wysoką krótkowzrocznością, nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu ET-1 biorąc pod uwagę płeć ($p = 0,841$), grupę wiekową ($\leq 13 / > 13$ lat) ($p = 0,942$), długość gałki ocznej ($\leq 26 \text{ mm} / > 26 \text{ mm}$) oraz obecność lub brak obwodowego zaniku naczyńkowo-siatkówkowego ($p = 0,649$). Stwierdzono natomiast istotnie obniżone stężenie ET-1 u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością i z długością gałki ocznej $> 26 \text{ mm}$ w porównaniu do pacjentów z długością gałki ocznej $\leq 26 \text{ mm}$ [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,23 (0,78; 1,72) vs 1,61 (1,12; 2,04) pg/mL, $p < 0,041$]. Wszyscy pacjenci z obwodowym zanikiem naczyńkowo-siatkówkowym mieli długość gałki ocznej $> 26 \text{ mm}$.

Wykazano, że stężenie ET-1 było istotnie niższe u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością i z długością gałki ocznej $> 26 \text{ mm}$ w porównaniu do grupy kontrolnej [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,23 (0,78; 1,72) vs 1,94 (1,1; 2,69) pg/mL, $p < 0,001$]. Natomiast nie stwierdzono różnicy w stężeniu ET-1 pomiędzy dziećmi z wysoką krótkowzrocznością i z długością gałki ocznej $\leq 26 \text{ mm}$ a grupą kontrolną.

U pacjentów z wysoką krótkowzrocznością stwierdzono słabą ujemną korelację pomiędzy stężeniem ET-1 a najdłuższą długością gałki ocznej wybraną spośród obu oczu ($r = -0,255$, $p = 0,0558$). Długość gałki ocznej korelowała ujemnie z refrakcją, zarówno oka prawego jak i lewego (odpowiednio: $r = -0,428$, $p < 0,001$; $r = -0,483$, $p < 0,001$).

W badaniu **Nr 2**, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy dziećmi z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka a grupą kontrolną w zakresie wieku ($p = 0,581$), płci ($p = 0,201$) oraz grup wiekowych ($\leq 13 / > 13$ lat) ($p = 0,393$). Natomiast, wykazano istotnie niższe stężenie ET-1 u dzieci z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka w porównaniu do grupy kontrolnej [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,33 (1,22; 1,48) vs 1,93 (1,1; 3,11) pg/mL, $p = 0,008$]. U dzieci z zapaleniem błony naczyniowej oka zakres stężeń ET-1 był wąski i wynosił od 0,86 pg/mL do 1,56 pg/mL, natomiast w grupie kontrolnej był szerszy i mieścił się w zakresie od 0,33 pg/mL do 3,83 pg/mL.

W dalszej analizie, oceniono różnice w stężeniu ET-1 biorąc pod uwagę płeć oraz grupę wiekową ($\leq 13 / > 13$ lat). Nie stwierdzono różnic w stężeniu ET-1 w zależności od płci oraz grup wiekowych, zarówno u dzieci z zapaleniem błony naczyniowej oka (odpowiednio: $p = 0,807$; $p = 0,961$) jak i w grupie kontrolnej (odpowiednio: $p = 0,646$; $p = 0,504$).

Nie obserwowano korelacji pomiędzy stężeniem ET-1 a wiekiem, zarówno w grupie badanej jak i w grupie kontrolnej (odpowiednio: $r = -0,070$, $p = 0,789$; $r = -0,257$, $p = 0,248$).

Wszyscy pacjenci z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka mieli przewlekły przebieg choroby, który trwał ponad 3 miesiące a nawrót nastąpił po okresie krótszym niż 3 miesiące po zakończonym leczeniu. Średni wiek pacjentów w chwili rozpoznania choroby wynosił $11,7 \pm 4,3$ lat, średni czas leczenia $111 \pm 13,7$ dni, a czas od rozpoznania choroby do chwili wykonania badań wynosił $202 \pm 62,6$ dni. Stężenie CRP u wszystkich pacjentów z przewlekłym zapaleniem błony naczyniowej oka mieściło się w granicach normy (do 5 mg/L) z medianą (Q1; Q3): 0,6 (0,3; 0,9) mg/L.

W badanej grupie dzieci z zapaleniem błony naczyniowej oka, nie stwierdzono różnic w stężeniu ET-1 w zależności od najlepiej skorygowanej ostrości wzroku: 0,7; 0,8 i 0,9 [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,30 (0,95; 1,39) vs 1,37 (1,22; 1,44) vs 1,39 (1,15; 1,54) pg/mL; $p = 0,576$].

Nie wykazano korelacji pomiędzy stężeniem ET-1 i CRP ($r = -0,118$, $p = 0,651$), oraz pomiędzy stężeniem ET-1 i najlepiej skorygowaną ostrością wzroku oraz wartością ciśnienia wewnątrzgałkowego w zmienionym zapalnie oku (odpowiednio: $r = 0,259$, $p = 0,315$; $r = 0,186$, $p = 0,475$).

U 9 z 17 dzieci stwierdzono zapalenie przedniego odcinka, u 5 – części tylnej, a u 3 – zapalenie całej błony naczyniowej oka; u 16 jednostronne i u 1 osoby obustronne. Biorąc pod uwagę anatomiczną lokalizację, nie stwierdzono różnic w stężeniu ET-1 w zapaleniu przedniego odcinka, części tylnej i całej błony naczyniowej oka [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,37 (1,28; 1,48) vs 1,22 (0,95; 1,39) vs 1,33 (1,22; 1,50) pg/mL, $p = 0,634$].

Nie zaobserwowano istotnych różnic w stężeniu ET-1 pomiędzy pacjentami z różnymi stopniami zapalenia gałki ocznej. Stężenie ET-1 nie różniło się pomiędzy stopniem 0,5+ vs 1+, w których oceniano ilość komórek zapalnych w przedniej komorze [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,44 (1,1; 1,52) vs 1,33 (1,28; 1,37) pg/mL; $p = 0,745$]; pomiędzy stopniem 1+ vs 2+, w których oceniano przymglenie cieczy wodnistej w komorze przedniej [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,44 (1,22; 1,50) vs 1,33 (1,28; 1,37) pg/mL; $p = 0,711$], oraz pomiędzy stopniem 1 vs 2, w których oceniano przymglenie ciała szklistego [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,27 (1,22; 1,50) vs 1,17 (0,95; 1,39) pg/mL; $p = 0,868$].

Podsumowanie i dyskusja

W badaniu **Nr 1** wykazaliśmy istotnie niższe stężenie ET-1 u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością i długością gałki ocznej > 26 mm, zarówno u chłopców jak i u dziewcząt, w porównaniu do pacjentów z krótkowzrocznością i długością gałki ocznej ≤ 26 mm oraz do

osób z grupy kontrolnej. Obwodowe zaniki naczyńkowo-siatkówkowe stwierdzono u pacjentów z długością gałki ocznej > 26 mm. Obserwowane niskie stężenie ET-1 w wysokiej krótkowzroczności z długością gałki ocznej > 26 mm. może wskazywać na zaburzenia szlaku sygnałowego ET-1 oraz na jego rolę w patofizjologii powstawania zmian zwyrodnieniowych w siatkówce. Słaba ujemna korelacja pomiędzy stężeniem ET-1 a najdłuższą długością gałki ocznej, a także silna ujemna korelacja pomiędzy długością gałki ocznej a wielkością refrakcji w obu oczach sugerują związek pomiędzy progresją wady w wysokiej krótkowzroczności wraz ze zmniejszającym się stężeniem ET-1. Niskie stężenie ET-1 u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością i długością gałki ocznej > 26 mm, może być spowodowany niewystarczającą produkcją, nadmiernym wychwytem przez receptory lub procesami szybkiej eliminacji. Nasze badanie jako pierwsze wykazało niskie stężenie ET-1 u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością i jego zależność z długością gałki ocznej i współwystępującymi zanikami naczyńkowo-siatkówkowymi, z tego powodu nie mogliśmy porównać naszych wyników z rezultatami innych autorów.

W wysokiej krótkowzroczności stwierdzono zmniejszoną średnicę naczyń oraz obniżoną saturację krwi w tętniczkach siatkówki [21, 25]. Wielu badaczy wskazuje, że parametry przepływu krwi u pacjentów z krótkowzrocznością są obniżone, niezależnie od zastosowanych metod diagnostycznych [62]. W wyniku wydłużenia gałki ocznej i rozciągnięcia naczyń krwionośnych u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością dochodzi do zaburzeń laminarnego przepływu krwi oraz napięcia ścian naczyń siatkówki i naczyńówki. W konsekwencji może dochodzić do zmiany przyściennego naprężenia ścinającego, które jest niezbędne do wytworzenia aktywnego peptydu ET-1 odpowiedzialnego za skurcz naczyń [2] oraz za uwalnianie NO [63]. Hamowanie tego procesu w wyniku niedoboru ET-1 jest niekorzystne i powoduje przerost mięśni gładkich naczyń.

Niskie stężenie ET-1 u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością może wpływać na zaburzenia w przepływie krwi w naczyniach siatkówki i naczyńówki oraz na powstawanie zmian niedokrwiennych predysponujących do powstawania zmian zwyrodnieniowych siatkówki. Uzyskane przez nas wyniki wskazują na zaburzenie szlaku sygnałowego endotelin, który jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania śródbłonna naczyniowego w gałce ocznej.

W badaniu **Nr 2**, stwierdziliśmy istotnie niższe stężenie ET-1 u dzieci i młodzieży z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka w porównaniu do grupy kontrolnej. U wszystkich pacjentów z przewlekłym zapaleniem błony naczyniowej oka stężenie ET-1 było prawie na tym samym poziomie w bardzo wąskim zakresie. W badanej

grupie dzieci najczęściej stwierdzanym typem zapalenia było przewlekłe zapalenie przedniego odcinka błony naczyniowej oka, co potwierdzają doniesienia innych autorów [49, 50]. Dowiedliśmy, że stężenie ET-1 jest niskie, niezależnie od anatomicznej lokalizacji oraz stopnia nasilenia zmian zapalnych w gałce ocznej. Istotnie niższe stężenie ET-1 obserwowane zarówno u dziewcząt, jak i u chłopców może wskazywać na rozregulowanie szlaku sygnałowego endoteliny i może być uważane za czynnik predykcyjny dla trwałego strukturalnego uszkodzenia tkanek oka. Nasze badanie jako pierwsze wykazało niższe stężenie ET-1 w przewlekłym idiopatycznym zapaleniu błony naczyniowej oka i stąd nie byliśmy w stanie porównać otrzymanych wyników z rezultatami innych autorów.

Istnieje wiele dowodów na to, że droga sygnałowa endoteliny odgrywa kluczową rolę w patogenezie wielu chorób oczu. Istnieją doniesienia na temat roli wysokiego stężenia ET-1 w patogenezie zapalenia błony naczyniowej oka na modelach zwierzęcych [57–59]. Natomiast, niższe stężenie ET-1 wykazano jedynie wśród dorosłych pacjentów ze zwyrodnieniem barwnikowym siatkówki, a autorzy sugerowali, że może ono odgrywać kluczową rolę w patogenezie tej choroby [64].

W zapaleniu przewlekłym równowaga między zwężającymi a rozszerzającymi naczynia czynnikami jest zaburzona i prowadzi do zwężenia naczyń [65]. Stan ten jest czasami określany jako „niedobór NO”, ponieważ NO jest głównym czynnikiem odpowiedzialnym za utrzymanie prawidłowego napięcia ścian naczyń. Niedobór ET-1 może prowadzić do zmniejszonego uwalniania NO. W konsekwencji wzrasta produkcja czynników prozapalnych i prozakrzepowych przez śródbłonek, która ostatecznie prowadzi do uszkodzenia tkanek [66].

Leczeniem pierwszego rzutu u pacjentów z przewlekłym zapaleniem błony naczyniowej oka, są GCs stosowane zarówno ogólnoustrojowo jak i miejscowo. Stosowanie tego typu leczenia wiąże się z wieloma skutkami ubocznymi [67–70]. Najczęstszymi powikłaniami przy stosowaniu GCs miejscowo jest wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego i zaćma. GCs mogą zmniejszać ekspresję genów i w ten sposób hamować syntezę ET-1 na poziomie transkrypcji [71]. Dowiedziono, że budezonid podany podskórnie obniżał poziom ET-1 o 72% u szczurów z indukowaną astmą oskrzelową [72]. Tseïmakh i wsp. zaobserwowali również istotnie obniżone stężenie ET-1 u pacjentów z przewlekłą obturacyjną chorobą płuc leczonych GCs ogólnoustrojowo i wziewnie [73].

W zapaleniu błony naczyniowej oka królika indukowanym endotoksyną *E. coli*, GCs tłumią odpowiedź zapalną w cieczy wodnistej poprzez zmniejszenie akumulacji kwasu arachidonowego, który jest substratem do biosyntezy prostaglandyny E [74]. Keles i wsp.

wykazali, że deksametazon zmniejsza stan zapalny błony naczyniowej oka poprzez obniżenie ekspresji indukowalnej syntazy NO (iNOS, inducible nitric oxide synthase), markera stanu zapalnego, i prozapalnej cytokiny TNF- α w cieczy wodnistej w indukowanym szczurzym modelu zapalenia błony naczyniowej oka [59]. Wszyscy badani przez nas pacjenci w przeszłości byli leczeni GCs. Biorąc to pod uwagę pojawia się pytanie czy stosowanie GCs u dzieci i młodzieży z zapaleniem błony naczyniowej oka przynosi korzyści czy może też prowadzić do uszkodzenia tkanek. Na podstawie przekrojowego projektu naszego badania trudno jest stwierdzić czy początkowe stężenie ET-1 było niższe w przewlekłym idiopatycznym zapaleniu błony naczyniowej oka czy wynikało ono z wcześniejszego stosowania GCs.

W ostatnim czasie dużym zainteresowaniem naukowców cieszy się interleukina-33 (IL-33), kluczowy członek rodziny IL-1. Jest ona uważana za białko o podwójnej funkcji, które wywiera działanie pro lub przeciwzapalne, działając zarówno jako wewnątrzkomórkowy czynnik jądrowy jak i cytokina. Swoje działanie wywiera poprzez przyłączenie się do receptora supresji guzotwórczości 2 (ST2, suppression of tumorigenicity 2 receptor), a istotne znaczenie kliniczne mają dwie jego izoformy: błonowa (ST2L) oraz rozpuszczalna sST2 (soluble ST2) swobodnie krążąca we krwi. Rozpuszczalna izoforma sST2 funkcjonuje jako receptor wabikowy (decoy receptor), który uniemożliwia wiązanie się IL-33 z receptorem ST2L, a efektem tego jest zmniejszenie odpowiedzi immunologicznej [75]. Efekt biologiczny IL-33 zależy więc od równowagi pomiędzy błonową i rozpuszczalną izoformą receptora. ET-1 zwiększa ekspresję rozpuszczalnych receptorów sST2, które zapobiegają wiązaniu się IL-33 z receptorami ST2L. Szlak sygnalizacyjny IL-33/ST2 może wpływać na komórki zarówno wrodzonego jak i nabytego układu odpornościowego [76].

Stwierdzono, że IL-33 była istotnie zwiększona w autoimmunologicznym zapaleniu błony naczyniowej oka u myszy [77] i u pacjentów z zapaleniem błony naczyniowej oka w chorobie Behçeta [78]. Jednak nie zaobserwowano różnic w poziomach IL-33 ani w surowicy, ani w cieczy wodnistej pomiędzy pacjentami z ostrym zapaleniem przedniego odcinka błony naczyniowej oka z antygenem HLA-B27 a idiopatycznym zapaleniem przedniego odcinka błony naczyniowej oka oraz grupą kontrolną [79].

Ograniczeniami naszych badań była mała liczebność badanych prób i obserwacyjne projekty badań, które nie pozwoliły wyciągnąć jednoznacznych wniosków na temat związków przyczynowo skutkowych. Ponadto brak możliwości oceny stężenia czynników uwalniających i hamujących wydzielanie ET-1 oraz cytokin prozapalnych może ograniczać spektrum możliwych zależności.

Wnioski

U dzieci i młodzieży z wysoką krótkowzrocznością z długością gałki ocznej > 26 mm i współwystępującym obwodowym zanikiem naczyńkowo-siatkówkowym stwierdzono istotnie obniżone stężenie ET-1 we krwi w stosunku do grupy kontrolnej oraz do dzieci z wysoką krótkowzrocznością i długością gałki ocznej ≤ 26 mm (**Nr 1**). Niskie stężenie ET-1 w wysokiej krótkowzroczności może wpływać na zaburzenia przepływu krwi w naczyniach naczyniówki i siatkówki predysponując do rozwoju zmian zwyrodnieniowych siatkówki i należy traktować je jako czynnik ryzyka w patofizjologii progresji wysokiej krótkowzroczności. Dlatego uważamy, że ocena poziomów ET-1 u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością może dostarczyć dodatkowych informacji na temat hemodynamiki w siatkówce i naczyniówce oraz przyczynić się do opracowania nowych strategii terapeutycznych zapobiegających utracie wzroku.

U dzieci i młodzieży z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka, niezależnie od anatomicznej lokalizacji i stopnia nasilenia zapalenia, również wykazano istotnie niższe stężenie ET-1 w porównaniu do grupy kontrolnej (**Nr 2**). Niskie stężenie ET-1 we krwi pacjentów z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka może odgrywać kluczową rolę w zaburzeniu napięcia ścian naczyń w gałce ocznej i we wzroście produkcji czynników prozapalnych i prozakrzepowych przez śródbłonek naczyniowy. W wyniku tych zmian może dochodzić do powstawania zmian niedokrwiennych i zwyrodnieniowych skutkujących uszkodzeniem tkanek oka i w konsekwencji upośledzeniem widzenia u tych chorych. Zatem kontrola stężenia ET-1 u pacjentów z zapaleniem błony naczyniowej oka może dać możliwości w opracowaniu nowych strategii leczenia tych chorych.

Wymagane są kolejne badania z udziałem większej liczby uczestników oraz dłuższym okresem obserwacji pacjentów, aby potwierdzić wyniki naszych badań. W przypadku dzieci z wysoką krótkowzrocznością wskazane jest wykonanie badań z kontrolą ocenianych parametrów w odstępach czasowych, aby stwierdzić, czy niskie stężenie ET-1 współwystępuje od początku rozpoznania wady a także czy ma związek z pogłębianiem się wady i powstawaniem zmian zwyrodnieniowych. Przyszłe badania powinny ocenić również rolę szlaku sygnałowego endoteliny w różnych typach zapalenia błony naczyniowej oka i porównać różnice między zakaźnym i niezakaźnym zapaleniem błony naczyniowej oka.



5. Publikacje stanowiące rozprawę doktorską

Nr 1. Powierza K, Żelazowska-Rutkowska B, Sawicka-Powierza J, Mikołuc B, Urban B, Zaremba W, Cylwik B, Bakunowicz-Łazarczyk A. Endothelin-1 Serum Concentration is Lower in Children and Adolescents with High Myopia, a Preliminary Study. *J. Clin. Med.* 2020;9,1327.

Nr 2. Powierza K, Sawicka-Powierza J, Urban B, Żelazowska-Rutkowska B, Cylwik B, Mikołuc B, Kowalewska O, Bakunowicz-Łazarczyk A. Endothelin-1 Serum Concentration in Pediatric Chronic Idiopathic Uveitis. *Clin. Ophthal.* 2021;15,157-164.

Article

Endothelin-1 Serum Concentration is Lower in Children and Adolescents with High Myopia, a Preliminary Study

Katarzyna Powierza ¹, Beata Żelazowska-Rutkowska ², Jolanta Sawicka-Powierza ³,
Bożena Mikołuc ⁴, Beata Urban ⁵, Wojciech Zaremba ⁵, Bogdan Cylwik ² and
Alina Bakunowicz-Łazarczyk ^{5,*}

¹ University Clinical Hospital in Białystok, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland; kpowierza93@gmail.com

² Department of Pediatric Laboratory Diagnostics, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland; beata.zelazowska@umb.edu.pl (B.Z.-R.); cylwikb@umb.edu.pl (B.C.)

³ Department of Family Medicine, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland; jolasawicka@gmail.com

⁴ Department of Pediatrics, Rheumatology, Immunology and Metabolic Bone Diseases, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland; bozenam@mp.pl

⁵ Department of Pediatric Ophthalmology and Strabismus, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland; urbanbea@umb.edu.pl (B.U.); wojciech.zaremba73@gmail.com (W.Z.)

* Correspondence: alina.lazarczyk@umb.edu.pl

Received: 1 April 2020; Accepted: 29 April 2020; Published: 2 May 2020



Abstract: The aim of this study is to evaluate the levels of endothelin-1 (ET-1) in children and adolescents with high myopia and its association with the axial length of the eye and the presence of myopic retinal degeneration. The cross-sectional study was carried out in 57 patients with high myopia and 29 control subjects. Serum concentrations of ET-1 were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. A significantly lower concentration of ET-1 in highly myopic patients compared to controls was found (1.47 (0.91; 1.87) vs. 1.94 (1.1; 2.69) pg/mL, $p = 0.005$). In patients with high myopia, a weak negative correlation between ET-1 concentration and the longest axial length out of the two eyes was found ($r = -0.255$, $p = 0.0558$). Further analysis revealed statistically significant differences in ET-1 concentration between patients with the axial length of the eye > 26 and ≤ 26 mm ($p < 0.041$) and patients with the axial length of the eye > 26 mm and controls ($p < 0.001$). ET-1 expression is disturbed in highly myopic children and adolescents. Lower ET-1 concentration in patients with the axial length of the eye > 26 mm may co-occur with high myopia and should be considered a risk factor in the pathophysiology of high myopia progression.

Keywords: endothelin-1; high myopia; axial length of eye; children; adolescents

1. Introduction

Myopia is one of the most common eye disorders in the world and its prevalence remains higher in Asia (60%) compared with Europe (40%). Studies report high prevalence rates in schoolchildren in East Asia (73%) and North America (42%). Low prevalence below 10% has been demonstrated in African and South American children. Risk factors for myopia in schoolchildren include limited outdoor time, dim light exposure, use of LED lamps for homework, insufficient amount of sleep, reading distance less than 25 cm, and living in an urban environment [1]. Pathological or high myopia is usually defined as spherical equivalent (SE) ≥ -6.00 diopters (D) or the axial length of the eye > 26 mm. This type of myopia is a public health and economic challenge because of its association with potentially blinding

complications such as glaucoma, retinal detachment, myopic macular degeneration, and ultimately blindness [2–4]. In recent years the occurrence of high myopia has also increased at an alarming rate in adults and elevated intraocular pressure is a risk factor for high myopia [5].

Endothelin-1 (ET-1) belongs to the family of endogenous vasoconstrictor peptides [6]. ET-1 is widely distributed in human tissues and secreted mainly by vascular smooth muscle cells (VSMC). As a result of transcription, proendothelin-1 is formed. Subsequent stimulation by hypoxia or vascular wall shear stress with the participation of an endothelin-converting enzyme leads to the formation of an active peptide [7]. ET-1 exerts its effects by binding to the endothelin receptors A (ETA) and B (ETB), two cell surface proteins that belong to the G-protein-coupled receptors superfamily. Both these receptors induce various effects depending on the binding subtype of endothelin. They also differ in their affinity to each type of endothelin. The binding affinity of ET-1 to ETA is greater than that of ET-2 and ET-3, whereas all subtypes of endothelin have equal binding affinity to receptor ETB [8]. ETA receptors are located mostly in VSMC, where they are responsible for potent vasoconstriction, cell proliferation, and a proinflammatory effect. ETB receptors include two subtypes: ETB1, which is expressed on endothelial cells and results in nitric oxide-mediated vasodilation, and ETB2, present in VSMC, which causes vasoconstriction [9,10].

Since we treat a great number of young patients with progressive myopia in our outpatient clinic, the pathogenesis of myopia is our object of interest. In our previous studies we have evaluated serum and hair concentrations of antioxidant microelements—zinc, copper, selenium, manganese, and Cu/Zn ratio in children and adolescents with myopia [11,12]. We have observed low serum concentrations of zinc and selenium in myopic children, which may imply an association between deficiency of these antioxidant microelements and the development of myopia, and additionally, significantly higher Cu/Zn ratio, which can suggest a relationship between myopia and oxidative stress. There are numerous literature reports on the involvement of environmental and genetic factors in the development of myopia, but there is limited data regarding cellular mechanisms. Up to date, researchers have not been successful in identifying a molecule common to all metabolic pathways which could be a target for effective treatment against myopic progression. Taking into account the physiological importance of ET-1 level in blood flow, we hypothesized that circulating ET-1 levels may vary depending on the severity of high myopia. Therefore, we determined ET-1 concentration in high myopia children and adolescents and examined its association with the axial length of the eye and the presence of myopic retinal degeneration.

2. Materials and Methods

2.1. Participants

The cross-sectional study was conducted among children and adolescents with high myopia and healthy controls who were recruited from the Department of Pediatric Ophthalmology and Strabismus, Medical University of Białystok, Poland. Exclusion criteria were any systemic inflammatory disease, arterial hypertension, diabetes mellitus, kidney diseases, hyperthyroidism, any anterior or posterior eye segment disease, or any systemic medication (e.g., steroids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, vitamins). Sixty-five patients with high myopia and thirty-four healthy subjects were recruited into the study. Eight individuals with high myopia as well as five controls did not meet the eligibility criteria and were excluded. Informed consent was obtained from all subjects or their legal guardians.

Finally, 57 Caucasian individuals (31 females, 26 males) aged 7–17 years with high myopia, defined as SE \geq -6.0 D and 29 (17 females, 12 males) age- and gender-matched healthy subjects from 7 to 17 years were recruited into the study. All control individuals had full visual acuity and did not require correction.

The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki on Biomedical Research Involving Human Subjects. The study protocol and procedures were approved by the Ethics Committee of the Medical University of Białystok (No R-I-002/144/2019).

2.2. Measurements

After the participants had rested in the sitting position for 30 min, blood samples were collected after overnight fasting from peripheral veins. The serum was separated by centrifugation immediately at $1.500\times g$ for 10 min at room temperature and sera were collected and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until measurements were obtained.

The concentration of ET-1 in serum was determined by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using a commercially available kit Endothelin-1 Immunoassay (R&D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA). ELISA kit was used following the manufacturer's instructions. In this technique a monoclonal antibody specific for ET-1 was pre-coated onto the wells of a 96-well microplates provided in this set. Next, standards and patient samples were pipetted into the wells and any endothelin-1 present was bounded by the immobilized antibody. After washing away any unbound substances, an enzyme-linked monoclonal antibody specific for ET-1 was added to the wells. Following a wash to remove any unbound-enzyme reagent a substrate solution was added to the wells. A substrate solution was acted upon by the enzyme to produce color in proportion to the amount of ET-1 bound in the initial step. The intensity of this colored product was directly proportional to the concentration of ET-1 in the patient specimens. Readings were performed using an ELISA microplate reader (ANTHOS, Wals/Salzburg, Austria) at an absorbance value of 450 nm. The results were calculated based on the standard curve and expressed in pg/mL. Sensitivity of the assay was 0.207 pg/mL. The coefficients of variation values (CV%) of intra-assay precision was 2.3% for 7.34 pg/mL and 1.9% for 14.7 pg/mL and inter-assay precision was 5.9% for 4.43 pg/mL and 5.3% for 14.4 pg/mL.

All patients underwent detailed ophthalmologic examination including visual acuity measurement, refraction error examination, intraocular pressure with TonoPen, slit-lamp examination and dilated fundus examination using Volk lens. Refractive error was determined using cycloplegic refraction after application of 1% Tropicamide with a TONOREF™ Nidek's autorefractor keratometer pachymeter. All measurements of an axial length of the eye were obtained using ultrasound A scan Quantel Medical AVISO device.

2.3. Statistical Methods

The statistical analysis was conducted using the STATISTICA version 13 [13]. Qualitative characteristics (sex, age group, presence of myopic retinal degeneration) were presented as numbers and percentages. Quantitative parameters were presented as mean, standard deviation, range, median, and quartiles. The structure by sex and age subgroups were compared using the Pearson chi-square test. Mann-Whitney U test was applied for comparison of analyzed features between all subgroups. Correlations between parameters were evaluated with Spearman's rank correlation coefficient. A significance of the coefficient was assessed by the t-student test. Differences in the levels of analyzed parameters and correlations were considered statistically significant at $p < 0.05$.

3. Results

The basic characteristics of high myopia patients and controls, as well as median serum ET-1 concentrations, are summarized in Table 1. As shown below, statistically significantly lower concentration of ET-1 in patients with high myopia compared to controls was demonstrated. No correlation was established between ET-1 concentration and age, either in highly myopic patients or controls ($r = 0.124, p = 0.364$ or $r = 0.069, p = 0.772$, respectively).

Characteristics of clinical parameters of patients with high myopia are presented in Table 2. All patients had normal intraocular pressure of 14–18 mmHg. None of the myopic patients had peripheral retinal degeneration (e.g., lattice degeneration). Advanced peripheral chorioretinal atrophy was observed in 11 patients with refractive errors between -8.0 to -17.0 D. In the remaining patients peripheral chorioretinal atrophy was less pronounced. In patients with high myopia, a weak negative

correlation between ET-1 concentration and the longest axial length out of the two eyes was found ($r = -0.255$, $p = 0.0558$). The axial length of the eye was negatively correlated with SE, both the right and left eyes ($r = -0.428$, $p < 0.001$; $r = -0.483$, $p < 0.001$, respectively). A positive correlation between SE refractive errors of both eyes was noticed ($r = 0.63$, $p < 0.001$).

Table 1. Basic characteristics and serum endothelin-1 concentration in children and adolescents with high myopia and controls.

Parameter	High Myopia Patients	Control Group	<i>p</i> Values
Number, <i>n</i>	57	29	
Age, years	14 (13; 16)	14 (11; 15)	0.181
Gender (female/male), <i>n</i> (%)	31 (54)/26 (46)	17 (59)/12 (41)	0.709
Age group (≤ 13 / > 13 year), <i>n</i> (%)	23 (40)/34 (60)	13 (45)/16 (55)	0.691
Endothelin-1, pg/mL	1.47 (0.91; 1.87)	1.94 (1.1; 2.69)	0.005

Notes: The results are presented as medians and quartiles (Q1; Q3), or numbers (*n*) and percentages (%).

Table 2. Characteristics of clinical parameters of patients with high myopia.

Features	High Myopia Patients, <i>n</i> = 57
Visual acuity of right eye	1.0 (0.7; 1.0)
Visual acuity of left eye	0.8 (0.6; 1.0)
Refractive error of right eye, D	-6.8 (-8.6; -6)
Refractive error of left eye, D	-6.8 (-9.5; -6)
Axial length of right eye, mm	25.9 (25.3; 26.6)
Axial length of left eye, mm	25.8 (25.3; 26.6)
Peripheral chorioretinal atrophy, yes/no, <i>n</i> (%)	11 (19)/46 (81)

Notes: The results are presented as medians and quartiles (Q1; Q3), or numbers (*n*) and percentages (%). Abbreviations: D, diopter; mm, millimeter.

In further analyses the relationship between ET-1 concentrations and patient features were assessed in subgroups, taking into account: gender, age (≤ 13 / > 13 years of age), axial length of the eye (> 26 and ≤ 26 mm) and presence of severe peripheral chorioretinal atrophy. Based on these analyses, no significant differences were found between ET-1 levels in different patient subgroups when gender ($p = 0.841$), age ($p = 0.942$), and peripheral chorioretinal atrophy ($p = 0.649$) were taken into consideration. Significantly lower ET-1 concentration was found between patients with the axial length of the eye > 26 and ≤ 26 mm ($p < 0.041$) and between patients with the axial length of the eye > 26 mm and controls ($p < 0.001$). There was no difference between ET-1 concentration in myopia patients with the axial length of the eye ≤ 26 mm and controls. No significant differences were found between subgroups of myopic patient with the axial length of the eye > 26 mm, with the axial length of the eye ≤ 26 mm and controls, when gender ($p = 0.312$) and age (≤ 13 / > 13 years of age) ($p = 0.912$) were taken into consideration (Table 3, Figure 1).

Table 3. Concentration of endothelin-1 in children and adolescents with high myopia.

Parameter	High Myopia Patients		Control Group
	Axial Length of Eye		
	> 26 mm	≤ 26 mm	
Number, <i>n</i>	29	28	29
Gender (female/male), <i>n</i> (%)	13 (45)/16 (55)	18 (64)/10 (36)	17 (59)/12 (41)
Age group (≤ 13 / > 13 year), <i>n</i> (%)	12 (41)/17 (59)	11 (39)/17 (61)	13 (45)/16 (55)
Endothelin-1, pg/mL	1.23 (0.78; 1.72) ^{a,b}	1.61 (1.12; 2.04)	1.94 (1.1; 2.69)

Notes: The longest axial length out of the two eyes was enrolled. The results are presented as medians and quartiles (Q1; Q3). ^a $p < 0.001$ —between patients with the axial length of the eye > 26 mm and controls; ^b $p < 0.041$ —between patients with the axial length of the eye > 26 and ≤ 26 mm.

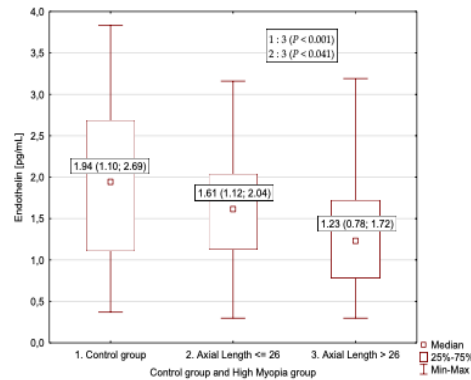


Figure 1. Endothelin-1 concentrations in myopic patients with the axial length of the eye > 26 and ≤ 26 mm and controls.

In subgroups of patients, taking into account the axial length of the eye ≤ 26 and > 26 mm, statistically significant differences between means of refractive errors of right and left eyes were observed [-6.9 ± 1.7 (-11 – -4.3) vs. -8.5 ± 3.2 (-18 – -3); $p = 0.039$ and -6.7 ± 1.6 (-10.5 – -3.5) vs. -9 ± 3.8 (-20 – -3.8) D, $p = 0.014$, respectively].

4. Discussion

In the current study we concluded that endothelin-1 (ET-1) expression is disturbed in children and adolescents with high myopia. The significantly lower concentration of ET-1 observed in patients with the axial length of the eye > 26 mm, both male and female, in comparison to myopia patients with the axial length of the eye ≤ 26 mm and to the controls may indicate disturbance in the endothelin signaling pathway and its role in the pathophysiology of high-myopia eyes. A weak negative correlation between ET-1 concentrations and the longest axial length out of the two eyes, and a strong negative correlation between the axial length of the eye and SE refractive error in both eyes suggest an association between lower ET-1 concentrations and severity of high myopia. Low serum ET-1 levels in our study may co-occur with high myopia and may be due to insufficient expression or rapid elimination processes of ET-1. Circulating ET-1 is mainly eliminated in the lung. The primary mechanism of elimination in the lungs and liver is by the internalization of the ETB (ETA) receptor and ET-1 complex, whereas in the kidneys by degradation by neutral endopeptidase (probably the most active in the proximal tubules) [14]. To the best of our knowledge, our study is the first to demonstrate a lower level of ET-1 in patients with high myopia and its relationship with the axial length of the eye, and for this reason we cannot compare our results with those of other authors.

Myopia is the most common eye disorder in children and adolescents. It is a condition in which individuals can see close objects clearly, while objects that are farther away appear blurred. In most cases, this condition occurs when the eyeball is too elongated, relative to the focusing power of the cornea and lens of the eye. This causes the light rays to focus at a point in front of the retina, not directly on its surface. In some cases, the eyeball is much more elongated, and this condition is called high or pathological myopia. Less commonly, myopia can also be caused by the cornea and/or lens being too curved for the length of the eyeball. In some cases, myopia occurs because of a combination of these factors. Myopia is a complex disease with a multi-factorial etiology. Many experimental and clinical studies have shown that myopia development results from the interplay between genetic and environmental factors [15,16]. Numerous studies demonstrate a higher rate of myopia in children with myopic parents suggesting that genetic factors are clearly involved in myopia development. At the same time, population studies indicate that development of myopia is associated with education, time spent outdoors, and the reading distance of less than 25 cm.

There is increasing evidence that the endothelin signaling pathway plays a key role in the pathogenesis of several ocular diseases and ET-1 level is a useful marker for evaluation of intraocular hemodynamic. The amount of blood needed in various organs and tissues varies and is achieved by adapting perfusion pressure and local resistance, for which the diameter of vessels is responsible [17]. In the eyeball, endothelins are expressed in tissues such as corneal epithelium, optic nerve astrocytes, ciliary body, trabecular meshwork cells, as well as in the vascular endothelial cells in the choroid and retina [18]. ET-1 modulates pericyte contractility in order to regulate retinal blood flow [19] and is involved in the regulation of intraocular pressure and aqueous humor dynamics [20]. Factors known to promote ET-1 expression include thrombin, insulin, cyclosporine, epinephrine, angiotensin II, cortisol, inflammatory mediators, hypoxia, and vascular wall shear stress. Endothelin expression is inhibited by nitric oxide (NO), dilator proteinoids, and natriuretic peptides [21]. The concentration of ET-1 in plasma depends on several factors such as synthesis, receptor connection, and its elimination from the body (lung, kidney, and liver) [22].

Reduced saturation of arterioles in the retina as well as narrowing of the retinal vascular diameter in highly myopic eyes has been previously demonstrated [23–27]. Many researchers have also consistently reported lower blood flow parameters in myopic eyes, regardless of the diagnostic methods used [28]. As a result of axial eyeball growth in patients with high myopia, laminar blood flow as well as retinal vascular tone are disturbed. Consequently, it affects the vascular shear stress, which is necessary to form the active ET-1 peptide [7], responsible for vasoconstriction. At a later stage, ET-1 releases NO leading to permanent tonic vasodilation [29]. Inhibition of basal NO release in humans results in vascular smooth muscle hypertrophy. The physiological value of shear stress in the arteries is in the range of approximately 15 dyne/cm² to 70 dyne/cm². Such shear stress exerts a protective effect on the vascular endothelium by stimulating the production of vasodilators. The thickening of the inner membrane occurs in places where wall shear stress is less than 10 dyne/cm². Experimental studies using flow chambers have shown that the endothelium already responds to very small changes in the shear stress value [30]. All this information, as well as reduced ET-1 expression in our highly myopia patients indicates disturbance of the endothelin signaling pathway, which is necessary for proper functioning of the vascular endothelium.

The two major limitations of our study were the small sample size and the observational design of the study. This did not allow us to draw firm conclusions about causality. In addition, the inability to assess the concentration of factors known to promote the expression and inhibitors of ET-1 in this study may limit the spectrum of possible associations.

In spite of the limitations of the study, we found that the expression of endothelin-1 is disturbed in high myopia pediatric patients with the axial length of the eye > 26 mm, and the lower level of ET-1 may co-occur with high myopia and may play a role in chorioretinal circulation and in the pathophysiology of high myopia progression. Therefore, the assessment of ET-1 levels in patients with high myopia may provide additional insights into choroidal and retinal hemodynamic and to the development of new therapeutic strategies to prevent myopic blindness. However, further studies involving a larger number of participants and longer follow-up duration are required to confirm our results.

Author Contributions: Conceptualization, A.B.-L. and K.P.; methodology, A.B.-L., B.C., and B.Ż.-R.; software, K.P. and J.S.-P.; validation, A.B.-L. and B.U.; formal analysis, K.P., J.S.-P., A.B.-L., and B.M.; investigation, K.P., J.S.-P., and A.B.-L.; resources, A.B.-L. and B.U.; data curation, W.Z.; writing—original draft preparation, K.P. and A.B.-L.; writing—review and editing, K.P., J.S.-P., A.B.-L., B.M., B.Ż.-R., B.C., and B.U.; visualization, K.P.; supervision, A.B.-L. and J.S.-P.; project administration, B.U.; funding acquisition, A.B.-L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was supported but not funded by the Medical University of Białystok.

Acknowledgments: We would like to thank the Pediatric University Hospital in Białystok for assistance in conducting the study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The founding sponsors had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, and in the decision to publish the results.

References

1. Grzybowski, A.; Kanclerz, P.; Tsubota, K.; Lanca, C.; Saw, S.M. A review on the epidemiology of myopia in school children worldwide. *BMC Ophthalmol.* **2020**, *20*, 27. [CrossRef] [PubMed]
2. Rose, K.; Harper, R.; Tromans, C.; Waterman, C.; Goldberg, D.; Haggerty, C.; Tullo, A. Quality of life in myopia. *Br. J. Ophthalmol.* **2000**, *84*, 1031–1034. [CrossRef] [PubMed]
3. Fitzgerald, D.E.; Chung, I.; Krumholtz, I. An analysis of high myopia in a pediatric population less than 10 years of age. *Optometry* **2005**, *76*, 102–114. [CrossRef]
4. Morgan, I.G.; Ohno-Matsui, K.; Saw, S.M. Myopia. *Lancet* **2012**, *379*, 1739–1748. [CrossRef]
5. Mori, K.; Kurihara, T.; Uchino, M.; Torii, H.; Kawashima, M.; Sasaki, M.; Ozawa, Y.; Yamagishi, K.; Iso, H.; Sawada, N.; et al. High Myopia and Its Associated Factors in JPHC-NEXT Eye Study: A Cross-Sectional Observational Study. *J. Clin. Med.* **2019**, *8*, 1788. [CrossRef]
6. Inoue, A.; Yanagisawa, M.; Kimura, S.; Kasuya, Y.; Miyauchi, T.; Goto, K.; Masaki, T. The human endothelin family: Three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1989**, *86*, 2863–2867. [CrossRef] [PubMed]
7. Jain, A. Endothelin-1-induced endoplasmic reticulum stress in disease. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2013**, *346*, 163–172. [CrossRef]
8. Lüscher, T.F. Endothelium-derived vasoactive factors and regulation of vascular tone in human blood vessels. *Lung* **1990**, *168*, 27–34. [CrossRef]
9. Yanagisawa, M.; Kurihara, H.; Kimura, S.; Tomobe, Y.; Kobayashi, M.; Mitsui, Y.; Yazaki, Y.; Goto, K.; Masaki, T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **1988**, *332*, 411–415. [CrossRef]
10. Hynynen, M.M.; Khalil, R.A. The vascular endothelin system in hypertension—recent patents and discoveries. *Recent Pat. Cardiovasc. Drug Discov.* **2006**, *1*, 95–108. [CrossRef]
11. Fedor, M.; Socha, K.; Urban, B.; Soroczyńska, J.; Matyskiela, M.; Borawska, M.H.; Bakunowicz-Lazarczyk, A. Serum Concentration of Zinc, Copper, Selenium, Manganese, and Cu/Zn Ratio in Children and Adolescents with Myopia. *Biol. Trace Elem. Res.* **2017**, *176*, 1–9. [CrossRef]
12. Fedor, M.; Urban, B.; Socha, K.; Soroczyńska, J.; Krętowska, M.; Borawska, M.H.; Bakunowicz-Lazarczyk, A. Concentration of Zinc, Copper, Selenium, Manganese, and Cu/Zn Ratio in Hair of Children and Adolescents with Myopia. *J. Ophthalmol.* **2019**, *2019*, 5643848. [CrossRef]
13. Dell Inc. Dell Statistica (Data Analysis Software System), Version 13. 2016. Available online: [software.dell.com](https://www.dell.com/software/dell.com) (accessed on 4 January 2020).
14. Boesen, E.I.; Pollock, D.M. Cooperative role of ETA and ETB receptors in mediating the diuretic response to intramedullary hyperosmotic NaCl infusion. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* **2010**, *299*, F1424–F1432. [CrossRef]
15. Rudnicka, A.R.; Kapetanakis, V.V.; Wathern, A.K.; Logan, N.S.; Gilmartin, B.; Whincup, P.H.; Cook, D.G.; Owen, C.G. Global variations and time trends in the prevalence of childhood myopia, a systematic review and quantitative meta-analysis: Implications for aetiology and early prevention. *Br. J. Ophthalmol.* **2016**, *100*, 882–890. [CrossRef]
16. Tedja, M.S.; Haarman, A.E.G.; Meester-Smoor, M.A.; Kaprio, J.; Mackey, D.A.; Guggenheim, J.A.; Hammond, C.J.; Verhoeven, V.J.M.; Klaver, C.C.W.; CREAM Consortium. IMI—Myopia Genetics Report. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2019**, *60*, M89–M105. [CrossRef]
17. Flammer, J.; Konieczka, K.; Flammer, A.J. The primary vascular dysregulation syndrome: Implications for eye diseases. *EPMA J.* **2013**, *4*, 14. [CrossRef]
18. Salvatore, S.; Vingolo, E.M. Endothelin-1 role in human eye: A review. *J. Ophthalmol.* **2010**, *2010*, 354645. [CrossRef] [PubMed]
19. Kawamura, H.; Oku, H.; Li, Q.; Sakagami, K.; Puro, D.G. Endothelin-induced changes in the physiology of retinal pericytes. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2002**, *43*, 882–888.
20. Taniguchi, T.; Okada, K.; Haque, M.S.; Sugiyama, K.; Kitazawa, Y. Effects of endothelin-1 on intraocular pressure and aqueous humor dynamics in the rabbit eye. *Curr. Eye Res.* **1994**, *13*, 461–464. [CrossRef] [PubMed]
21. Gray, G.A.; Webb, D.J. The endothelin system and its potential as a therapeutic target in cardiovascular disease. *Pharmacol. Ther.* **1996**, *72*, 109–148. [CrossRef]

22. Kohno, M.; Murakawa, K.; Yasunari, K.; Yokokawa, K.; Horio, T.; Kurihara, N.; Takeda, T. Prolonged blood pressure elevation after endothelin administration in bilaterally nephrectomized rats. *Metabolism* **1989**, *38*, 712–713. [[CrossRef](#)]
23. Ikuno, Y.; Tano, Y. Retinal and choroidal biometry in highly myopic eyes with spectral-domain optical coherence tomography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2009**, *50*, 3876–3880. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Fujiwara, T.; Imamura, Y.; Margolis, R.; Slakter, J.S.; Spaide, R.F. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in highly myopic eyes. *Am. J. Ophthalmol.* **2009**, *148*, 445–450. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Fujiwara, A.; Shiragami, C.; Shirakata, Y.; Manabe, S.; Izumibata, S.; Shiraga, F. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography of subfoveal choroidal thickness in normal Japanese eyes. *Jpn. J. Ophthalmol.* **2012**, *56*, 230–235. [[CrossRef](#)]
26. Chen, F.K.; Yeoh, J.; Rahman, W.; Patel, P.J.; Tufail, A.; Da Cruz, L. Topographic variation and interocular symmetry of macular choroidal thickness using enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* **2012**, *53*, 975–985. [[CrossRef](#)]
27. Zheng, Q.; Zong, Y.; Li, L.; Huang, X.; Lin, L.; Yang, W.; Yuan, Y.; Li, Y.; He, H.; Gao, Q. Retinal vessel oxygen saturation and vessel diameter in high myopia. *Ophthalmic Physiol. Opt.* **2015**, *35*, 562–569. [[CrossRef](#)]
28. Grudzińska, E.; Modrzejewska, M. Modern Diagnostic Techniques for the Assessment of Ocular Blood Flow in Myopia: Current State of Knowledge. *J. Ophthalmol.* **2018**, *2018*, 4694789. [[CrossRef](#)]
29. Fleming, I.; Busse, R. Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovasc. Res.* **1999**, *43*, 532–541. [[CrossRef](#)]
30. Tsou, J.K.; Gower, R.M.; Ting, H.J.; Schaff, U.Y.; Insana, M.F.; Passerini, A.G.; Simon, S.I. Spatial regulation of inflammation by human aortic endothelial cells in a linear gradient of shear stress. *Microcirculation* **2008**, *15*, 311–323. [[CrossRef](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Endothelin-1 Serum Concentration in Pediatric Chronic Idiopathic Uveitis

This article was published in the following Dove Press journal:
Clinical Ophthalmology

Katarzyna Powierza ¹
Jolanta Sawicka-
Powierza ²
Beata Urban ³
Beata Żelazowska-
Rutkowska ⁴
Bogdan Cylwik ⁴
Bożena Mikołuc ⁵
Olga Kowalewska ⁶
Alina Bakunowicz-
Łazarczyk ³

¹University Clinical Hospital in Białystok, Medical University of Białystok, Białystok 15-276, Poland; ²Department of Family Medicine, Medical University of Białystok, Białystok 15-054, Poland; ³Department of Pediatric Ophthalmology and Strabismus, Medical University of Białystok, Białystok 15-274, Poland; ⁴Department of Pediatric Laboratory Diagnostics, Medical University of Białystok, Białystok 15-274, Poland; ⁵Department of Pediatrics, Rheumatology, Immunology and Metabolic Bone Diseases, Medical University of Białystok, Białystok 15-274, Poland; ⁶Psychiatric Clinic, Lund, Division of Psychiatry, Lund 222 40, Sweden

Correspondence: Jolanta Sawicka-
Powierza
Department of Family Medicine, Medical
University of Białystok, Mieszka I 4B
Street, Białystok 15-054, Poland
Tel +48 857326820
Fax +48 857327848
Email jolasawicka@gmail.com

Purpose: The aim of our study was to determine endothelin-1 (ET-1) concentration in chronic idiopathic uveitis in children and adolescents depending on anatomical location and grade of inflammation.

Methods: The cross-sectional study was conducted among 17 patients with chronic idiopathic uveitis and 22 healthy controls. Concentration of ET-1 in serum was determined using a commercially available ELISA kit. The concentration of C reactive protein (CRP) in serum was determined by immunoturbidimetric method using CRP4 reagent kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

Results: Statistically significant difference between ET-1 concentration in patients with chronic idiopathic uveitis and controls was found 1.33 (1.22; 1.48) vs 1.93 (1.1; 3.11), $p = 0.008$. No correlations were found between ET-1 concentration and age, either in chronic idiopathic uveitis patients or controls. Nine out of 17 patients presented with anterior uveitis, 5 with posterior and 3 with panuveitis. There were no differences in ET-1 concentration between anterior, posterior and panuveitis ($p = 0.634$), and in terms of grade of inflammation.

Conclusion: ET-1 expression is disturbed in pediatric chronic idiopathic uveitis irrespective of the anatomical location and grade of inflammation. Lower expression of ET-1 plays a crucial role in disturbed vascular tone control and can result in permanent visual impairment in chronic non-infectious uveitis.

Keywords: adolescents, children, chronic idiopathic uveitis, endothelin-1

Introduction

Uveitis is the inflammation of the uveal tract which lines the inside of the eye behind the cornea. Much of the uvea lies between the retina and tough, outer sclera. The uveal tract consists of three parts: the iris, the ciliary body and the choroid.^{1,2} Left untreated, uveitis can cause serious complications including cataracts, glaucoma, macular edema, retinal detachment, retinal scarring, optic nerve damage or even permanent vision loss. Uveitis is categorized according to the affected part of the uveal tract. There are three anatomical patterns of uveitis. Anterior uveitis (most common) affects the inside of the front of the eye (between the cornea and the iris) and the ciliary body. Intermediate uveitis affects the retina and blood vessels just behind the lens (pars plana). Posterior uveitis affects the choroid as well as the retina. Panuveitis affects all structures of the uvea.

Uveitis can occur in any age group, but pediatric uveitis differs from adult-onset uveitis.^{3,4} In a population-based study in the United Kingdom and Finland, the annual incidence rate of uveitis was found to be 3.5 to 4.3 per 100,000 children, respectively.^{5,6} Uveitis in children is very often asymptomatic, chronic and resistant to treatment. In

most cases of pediatric uveitis, anterior uveitis and up to 60% idiopathic cases are diagnosed. Pediatric rheumatological diseases associated with uveitis include juvenile idiopathic arthritis, juvenile sarcoidosis/Blau syndrome and Behçet's disease.^{3,4,7-9} A large percent of patients with uveitis have a disease that does not fit into any known etiologic category.^{10,11} Many patients with this disorder, have a form of sarcoid limited to the eye,¹² some viral infections¹³ or other autoimmune reactions. A huge challenge for ophthalmologists around the world is pediatric idiopathic non-infectious uveitis, where the triggering factors are still unknown.

ET-1, a very strong vasoconstrictor peptide, is widely distributed in human tissues and secreted mainly by vascular smooth muscle cells (VSMC). As a result of transcription, proendothelin-1 is formed, and subsequent stimulation by hypoxia or vascular wall shear stress, with the participation of an endothelin converting enzyme, leads to the formation of an active peptide.¹⁴ ET-1 exerts its effects by binding to the endothelin receptors A (ETA) and B (ETB), two cell surface proteins that belong to the G-protein-coupled receptors superfamily. ETA receptors are located mostly in VSMC, where they are responsible for potent vasoconstriction, cell proliferation and a proinflammatory effect. ETB receptors include two subtypes: ETB1, which is expressed on endothelial cells and results in nitric oxide-mediated vasodilation, and ETB2, present in VSMC, which causes vasoconstriction.^{15,16} ET-1 modulates pericyte contractility to regulate retinal blood flow and is involved in the regulation of intraocular pressure and aqueous humor dynamics.^{17,18} ET-1 is also an important mediator in ocular inflammatory reactions via arachidonic acid cascade.¹⁹

There are numerous literature reports on the significance of ET-1 concentration in uveitis associated with rheumatological diseases²⁰ or induced animal models of uveitis.^{19,21-23} The physiological importance of ET-1 level in blood flow in different parts of the uvea and in inflammatory process is well established, but ET-1 level in chronic non-infectious uveitis has not been established to date. Therefore, the aim of our study was to determine ET-1 concentration in chronic idiopathic uveitis in children and adolescents depending on anatomical location and the grade of inflammation.

Materials and Methods

Participants

The cross-sectional study was conducted among children and adolescents with chronic idiopathic uveitis and healthy controls, who were consecutively selected in order of appearance

at the Department of Pediatric Ophthalmology and Strabismus, Medical University of Białystok, Poland. The diagnosis of chronic uveitis and the grade of inflammation was based on clinical signs and location of the inflammatory process which was established on the basis of a slit-lamp and dilated fundus examination (anterior chamber cells, anterior chamber flare, vitreous haze, choroidal/retinal changes) according to the Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) and the National Eye Institute Criteria (Table 1).^{1,24,25} The diagnosis of idiopathic uveitis was established following an in-depth patient interview, a thorough ophthalmological and rheumatological examination and exclusion of all possible etiologies including evolving systemic conditions. Exclusion criteria were any systemic inflammatory diseases, arterial

Table 1 Grading Schemes for Uveitis According to SUN and the National Eye Institute Criteria

Grading Scheme for Anterior Chamber Cells	
Grade	Cells in Field (1×1 mm slit beam)
0	< 1
0.5+	1-5
1+	6-15
2+	16-25
3+	26-50
4+	> 50
Grading Scheme for Anterior Chamber Flare	
Grade	Description
0	None
1+	Faint
2+	Moderate (iris and lens details clear)
3+	Marked (iris and lens details hazy)
4+	Intense (fibrin or plastic aqueous)
Grading Scheme for Vitreous Haze	
Grade	Description (clinical finding)
0	Nil (none)
1	Minimal (posterior pole clearly visible)
2	Mild (posterior pole details slightly hazy)
3	Moderate (posterior pole details very hazy)
4	Marked (posterior pole details barely visible)
5	Severe (fundal details not visible)

Notes: Data from Nussenblatt et al.^{24,25} Reproduced from Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol.* 2005;140(3):509-516. Copyright 2005, with permission from Elsevier. Adapted with permission of Touch Medical Media, from Zierhut M, Deuter C, Murray FI. Classification of Uveitis – Current Guidelines. *European Ophthalmic Review.* Copyright 2007, permission conveyed through Copyright Clearance Center, Inc.²⁵

Abbreviation: SUN, the Standardization of Uveitis Nomenclature.

hypertension, diabetes mellitus, kidney diseases, hyperthyroidism, any ocular diseases or use of any systemic medication (eg, steroids, nonsteroidal anti-inflammatory drugs) or vitamins.

Parents or legal guardians of all study participants were required to sign written informed consent which explained the aims, design and expected outcomes of the study. The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki on Biomedical Research Involving Human Subjects. The study protocol and procedures were approved by the Ethics Committee of the Medical University of Białystok (No R-I-002/144/2019).

Measurements

After the participants had rested in the sitting position for 30 minutes, blood samples were collected from peripheral veins before starting the treatment. The serum was separated by centrifugation immediately at $1.500\times g$ for 10 minutes at room temperature and sera were collected and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until measurements were obtained.

Following blood sample collection, all patients with chronic idiopathic uveitis required both topical and glucocorticosteroid (GCs) treatment (first intravenous, then oral), with a maintenance dose not exceeding 10 mg oral prednisolone equivalent per day. Systemic GCs treatment was as short as possible with a maximum duration of two months. All patients with chronic non-infectious uveitis had GCs therapy in the past.

The concentration of ET-1 in serum was determined by sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using a commercially available kit Endothelin-1 Immunoassay (R@D Systems, Inc., Minneapolis, MN, USA). ELISA kit was used following the manufacturer's instructions. Readings were performed using an ELISA microplate reader (ANTHOS, Wals/Salzburg, Austria) at an absorbance value of 450 nm. The results were expressed in pg/mL. Sensitivity of the assay was 0.207 pg/mL. The coefficients of variation values (CV%) of intra-assay precision was 2.3% for 7.34 pg/mL and 1.9% for 14.7 pg/mL and inter-assay precision was 5.9% for 4.43 pg/mL and 5.3% for 14.4 pg/mL.

The concentration of C reactive protein (CRP) in serum was determined by immunoturbidimetric method using CRP4 reagent kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). In this method, human CRP agglutinates with biologically inert latex particles coated with mouse monoclonal anti-CRP antibodies. The aggregates are determined turbidimetrically at 570 nm. The coefficient of variation values (CV%) of intra-assay precision (repeatability) were 1.7% for 3.63 mg/L and 1.3% for 9.69 mg/L, and inter-

assay precision (intermediate precision, 2 aliquots per run, 2 runs per day, 21 days) was 1.7% for 3.63 mg/L and 1.7% for 9.69 mg/L.

All patients underwent detailed ophthalmologic examination including best corrected visual acuity measurement using Snellen Chart or illiterate E charts, intraocular pressure with TonoPen, slit-lamp examination and dilated fundus examination using Volk lens. Refractive error was determined using cycloplegic refraction after the application of 1% Tropicamide with a TONOREF™ Nidek's Auto Ref/Kerato/Tono/Pachymeter.

Statistical Methods

Statistical analysis was performed using Statistica 13 PL (StatSoft, Poland). Normality of distribution of variables was checked by the Shapiro–Wilk test. The data did not follow a normal distribution. The results were expressed as means and standard deviations (SD) and medians and quartiles (Q1, Q3), or numbers (n) and percentages (%). Study participants were compared in regard to gender and age by the Pearson chi-square test. Differences between the study group and controls were evaluated using the Mann–Whitney *U*-test. To test differences between the location and grade of inflammation, the ANOVA rank Kruskal–Wallis test was done. Post-hoc comparisons following the ANOVA rank Kruskal–Wallis test were performed using Tukey's test. Correlations between variables were assessed by the Spearman's rank correlation coefficient. The results were considered to be statistically significant when *p* values were lower than 0.05.

Results

Seventeen Caucasian individuals (7 females, 10 males) with the mean age of 12.3 ± 4.3 years, aged from 5 to 17 years, with chronic non-infectious uveitis and 22 age- and gender-matched healthy subjects with the mean age of 11.6 ± 4.5 years, aged from 4 to 17 years, were recruited for the study. Best corrected visual acuity of the eye with inflammation ranged from 0.7 to 0.9. Subjects from the control group had full visual acuity and did not require correction. All patients with chronic uveitis and controls had normal intraocular pressure of 14–18 mmHg.

The basic characteristics of idiopathic uveitis patients and controls are summarized in Table 2. Statistically significant difference between ET-1 concentration in patients with chronic idiopathic uveitis and controls was observed ($p = 0.008$) (Figure 1). In chronic idiopathic uveitis, the range of ET-1 was very narrow and ranged from 0.86 pg/

Table 2 Basic Characteristics and Serum Endothelin-1 Concentration in Children and Adolescents with Idiopathic Uveitis and Control Group

Parameter	Chronic Idiopathic Uveitis	Control Group	p values
Number, n	17	22	
Age, years	12.3 ± 4.30	11.6 ± 4.46	0.581
Gender (female/male), n (%)	7 (41)/10 (59)	11 (50)/11 (50)	0.201
Age group (≤13/>13 year), n (%)	9(53)/8(47)	13 (59)/9 (41)	0.393
Endothelin-1, pg/mL	1.33 (1.22; 1.48)	1.93 (1.1; 3.11)	0.008

Notes: The results are presented as mean and standard deviation (SD) and medians and quartiles (Q1; Q3), or numbers (n) and percentages (%).

mL to 1.56 pg/mL. In controls, the value range of ET-1 concentration was wider and extended from 0.33 pg/mL to 3.83 pg/mL. In further analysis the relationship between ET-1 concentrations and participant characteristics were assessed in subgroups, taking into account gender and age group (≤13/>13 years of age). No significant differences were found in ET-1 levels between the genders and age groups, either in uveitis patients ($p = 0.807$; $p = 0.961$, respectively) or controls ($p = 0.646$; $p = 0.504$, respectively). No correlations were established between ET-1 concentration and age, either in idiopathic uveitis patients or controls ($r = -0.070$, $p = 0.789$ and $r = -0.257$, $p = 0.248$, respectively).

Characteristics of chronic idiopathic uveitis patients are presented in Table 3. All chronic idiopathic uveitis patients presented an insidious onset and persistent duration. The mean age at onset of patients with chronic uveitis was 11.7 ± 4.3 years, mean follow-up period (treatment duration) 111 ± 13.7 days and disease duration 202 ± 62.6 days. CRP concentration

in all patients with chronic uveitis was within a normal range (up to 5 mg/L) with median (Q1; Q3) 0.6 (0.3; 0.9) mg/L. In the study cohort, no differences were established in ET-1 concentrations between uveitis patients with different best visual acuity: 0.7, 0.8 and 0.9 [medians (Q1; Q3): 1.30 (0.95; 1.39) vs 1.37 (1.22; 1.44) vs 1.39 (1.15; 1.54) pg/mL; $H = 1.102$, $p = 0.576$]. There were no correlations between the levels of ET-1 and CRP ($r = -0.118$, $p = 0.651$), between ET-1 levels, and the best corrected visual acuity and intraocular pressure of the eye with inflammation ($r = 0.259$, $p = 0.315$ and $r = 0.186$, $p = 0.475$, respectively).

Nine out of 17 patients participating in the study presented with anterior uveitis, 5 – posterior uveitis and 3 – panuveitis; 16 with unilateral and 1 with bilateral laterality. Considering the location of inflammation, there were no differences between ET-1 concentrations in anterior uveitis, posterior uveitis and panuveitis [medians (Q1; Q3): 1.37 (1.28; 1.48) vs 1.22 (0.95; 1.39) vs 1.33 (1.22; 1.50) pg/mL; $H = 0.912$, $p = 0.634$, respectively]. No significant differences in ET-1 concentrations between chronic idiopathic uveitis patients with varying grades of inflammation were observed (Table 4).

Discussion

In our study, we observed significantly lower ET-1 concentration in patients with chronic idiopathic uveitis in comparison to controls. We concluded that ET-1 expression is disturbed in chronic idiopathic uveitis irrespective of anatomical location and grade of inflammation. The significantly lower concentration of ET-1 observed in both females and males may indicate dysregulation in the endothelin signaling pathway and may be considered a predictive factor for long-term structural damage of ocular tissues. Our study is the first to demonstrate lower levels of ET-1 in chronic non-infectious uveitis and therefore we are unable to compare our results with those of other authors. Studies on uveitis have been performed in patients with rheumatological diseases associated with uveitis and on induced animal models of uveitis. The most common type of

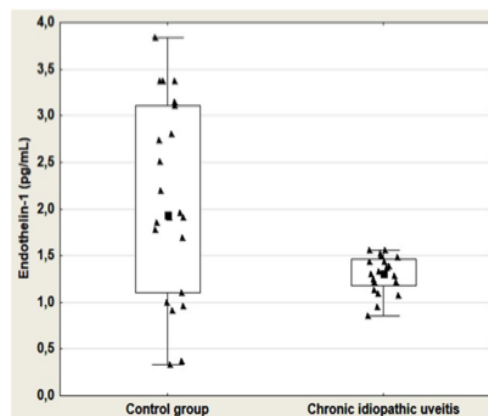


Figure 1 Box and whisker plots and scatter plots of serum endothelin-1 concentrations in control group and chronic idiopathic uveitis. Boxes represent the interquartile range (25th–75th percentiles), the point in the box represents the median, and the whiskers extend to the most extreme data points (range).

Table 3 Characteristics of Chronic Idiopathic Uveitis Patients and the Grades of Inflammation According to SUN Criteria

Age	Sex (F/M)	Visual Acuity (R/L)	Anatomical Location	Anterior Chamber Cells	Anterior Chamber Flare	Vitreous Haze	CRP, mg/L	ET-1, pg/mL
15	M	1.0/0.9	A	0.5+	1+		0.2	1.56
17	F	0.9/1.0	P			1	0.6	1.56
7	M	0.8/1.0	A	0.5+	1+		0.88	1.44
17	M	0.9/1.0	A	0.5+	1+		0.3	1.3
11	F	1.0/0.8	A+P	1+	1+	1	0.3	1.22
16	M	0.7/1.0	P			1	0.3	0.86
17	F	1.0/0.7	A+P	1+	2+	1	0.6	1.33
9	F	1.0/0.9	A	0.5+	1+		0.1	1.52
15	F	1.0/0.9	A	0.5+	1+		0.9	1.09
10	M	0.7/1.0	P			2	0.2	1.39
17	M	1.0/0.7	P			2	0.5	0.95
8	M	0.9/0.9	P			1	1.3	1.22
13	M	1.0/0.8	A	1+	2+		0.5	1.37
13	F	1.0/0.7	A	1+	2+		3.08	1.28
15	M	1.0/0.7	A+P	1+	1+	1	0.91	1.5
5	F	1.0/0.9	A	0.5+	1+		0.79	1.07
5	M	0.9/1.0	A	0.5+	1+		3.8	1.48

Abbreviations: A, anterior uveitis; A+P, panuveitis; CRP, C reactive protein; ET-1, endothelin-1; F, female; L, left; M, male; P, posterior uveitis; R, right; SUN, the Standardization of Uveitis Nomenclature.

Table 4 Concentrations of Endothelin-1 Depending on the Grade of Inflammation

Grade of Inflammation	ET-1, pg/mL		p values
Number	7	5	
Anterior chamber cells (grade 0.5+ vs 1+)	1.44 (1.1; 1.52)	1.33 (1.28; 1.37)	0.745
Number	9	3	
Anterior chamber flare (grade 1+ vs 2+)	1.44 (1.22; 1.50)	1.33 (1.28; 1.37)	0.711
Number	6	2	
Vitreous haze (grade 1 vs 2)	1.27 (1.22; 1.50)	1.17 (0.95; 1.39)	0.868

Note: The results are presented as medians and quartiles (Q1; Q3).
Abbreviation: ET-1, endothelin-1.

idiopathic uveitis in our study cohort was anterior chronic uveitis with an insidious onset and persistent duration, as confirmed by the reports of other authors.^{3,4}

ET-1 modulates pericyte contractility to regulate retinal blood flow and is involved in the regulation of intraocular pressure and aqueous humor dynamics.^{17,18} An amount of blood needed in various organs and tissues varies and is achieved by adapting perfusion pressure and local resistance to flow. The blood flow in various tissues in the eye is regulated differently.²⁶ The eye is supplied by two vascular systems: the uveal and the retinal vessels. The retinal blood flow is characterized by a low perfusion rate, a high vascular resistance and a high oxygen extraction. By contrast, the choroid blood flow shows a high perfusion rate, a low vascular resistance and a low oxygen extraction. Vascular dysregulation (VD) plays a significant role in the pathogenesis of uveitis. Patients with

primary VD tend to have signs of oxidative stress and a slightly increased ET-1 plasma level. The secondary VD occurs in the case of autoimmune disorders in different diseases.²⁷

The human serum level of ET-1 has a low but measurable concentration of 0.7–5.0 pg/mL^{28,29} and is characterized by a very short half-life in the blood – around 7 minutes. Low concentration in the blood results from active uptake by receptors present in epithelial cells and high activity of the endothelin-degrading enzyme. In turn, attachment of the endothelin to the receptor and the subsequent internalization of the receptor-ligand complex to the cytosol, protects it from biodegradation and prolongs this time.^{30,31} So, the concentration of ET-1 in plasma depends on several elements as synthesis, connection with receptors and the efficiency of mechanisms eliminating from the body in the lungs, kidneys and liver.³² It should be noted that hypoxia is a strong

Clinical Ophthalmology downloaded from https://www.dovepress.com/ by 79.186.216.50 on 08-Aug-2021 For personal use only.

stimulator of ET-1 in vivo and in vitro, since the concentration of this peptide in the blood of people with hypoxaemic cor pulmonale is the same as in healthy volunteers during short-term hypoxaemia.^{33,34}

There is increasing evidence that the endothelin signaling pathway plays a key role in the pathogenesis of several ocular diseases. But only two studies presented lower expression of ET-1, in adult patients with retinitis pigmentosa³⁵ and in children with high myopia with the axial length of the eye >26 mm.³⁶

In our study, patients with chronic idiopathic uveitis had significantly lower ET-1 concentrations in comparison to control subjects. In all chronic uveitis patients, ET-1 levels were almost at the same level within a very narrow range. Disturbance of the endothelin signaling pathway can play a key role in permanent visual impairment in patients with chronic idiopathic uveitis.³⁷ Low concentration of ET-1 may lead to decreased blood flow in the choroidal vessels by effecting in reversing the balance between ET-1 and nitric oxide (NO) concentration. In chronic inflammation the balance between vasoconstriction and vasodilatation factors is disturbed in favor of vasoconstriction.³¹ This condition is also sometimes referred to as "NO deficiency" because NO is the main factor responsible for maintaining proper vascular tone. Consequently, the production of pro-thrombotic and inflammatory factors by the endothelium increases which initiates a sequence of events that ultimately leads to tissue damage.³⁸

Several studies have demonstrated that ET-1 contributes to the development of inflammatory processes in the vascular wall. It has been shown that ET-1 is associated with an inflammatory response involving activation of transcription factors, such as nuclear factor (NF- κ B) and expression of proinflammatory cytokines, including tumor necrosis factor alfa (TNF- α), interleukin-1 (IL-1) and IL-6.³⁹ In turn, these transcription factors and proinflammatory cytokines can stimulate ET-1 production.⁴⁰ IL-33, a crucial member of the IL-1 family, is considered a dual function protein which exerts its pro- or anti-inflammatory effect by acting as both an intracellular nuclear factor and a cytokine.⁴¹ ET-1 increases the expression of soluble IL-33 receptors (sST2, suppression of tumorigenicity 2 receptors) which may prevent binding of IL-33 to cell-surface receptors.

Epithelium responds to various environmental factors by releasing key cytokines such as thymic stromal lymphopoietin (TSLP), IL-33 and IL-25,⁴² cytokines regarded as type 2 immune response-initiating.⁴³ The IL-33/ST2 axis could affect cells both of the innate and adaptive immune system.⁴⁴ Many studies have demonstrated recently that the

IL33/ST2 axis plays crucial role in several eye diseases, including uveitis.⁴⁵ IL-33 was significantly upregulated in autoimmune uveitis in mice⁴⁶ and in patients with Behçet's uveitis.⁴⁷ However, no differences in IL-33 levels in either serum or aqueous humor were observed between acute anterior uveitis and controls.⁴⁸ Future investigations should re-evaluate the role of IL-33/ST2 in different types of uveitis, compare differences between infectious and noninfectious uveitis and clarify potential reasons for the discrepancy.

The use of GCs especially in general are the primary treatment choice in patients with chronic idiopathic uveitis but it is associated with a multiple number of side effects in the eye.^{49–52} The most common complication after local GCs use is increased intraocular pressure and cataract development. ET-1 synthesis in human cells is regulated at the transcription level and GCs may reduce gene expression.⁵³ GCs reduce prostaglandin E accumulation in rabbit eyes by limiting the availability of the substrate for prostaglandin and leukotrienes biosynthesis and thus suppress the inflammatory response.⁵⁴ Keles et al showed that dexamethasone reduced intraocular inflammation by lowering levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and TNF- α expression in rat model of endotoxin-induced uveitis.²³ It has been reported that budesonide given subcutaneously reduced ET-1 level by 72% in induced bronchial asthma rats.⁵⁵ Tseimakh et al also have observed significantly reduced ET-1 levels in chronic obstructive pulmonary disease patients treated with systemic and inhaled GCs.⁵⁶ Given the mechanism of action of GCs and their influence on ET-1 expression, the question arises whether their use in children and adolescents with chronic idiopathic uveitis can bring good results or lead to tissue damage. It is difficult to say whether the ET-1 concentration was lower initially in chronic non-infectious uveitis or was it the result of the GCs used in the past.

The two major limitations of our study were the small sample size and the observational design of the study. This did not allow us to draw firm conclusions about causality. In addition, the inability to assess the concentration of factors known to promote the expression and inhibitors of ET-1 and proinflammatory cytokines in this study may limit the spectrum of possible associations. In connection with the role that inflammation plays in tissue damage and the development of undesirable symptoms, new methods of controlling the inflammatory response are constantly being sought. However, further studies involving a larger number of participants and longer follow-up duration are required to confirm our results.

Conclusions

ET-1 expression is disturbed in pediatric chronic idiopathic uveitis irrespective of the anatomical location and grade of inflammation. We conclude that lower ET-1 expression plays a crucial role in disturbed vascular tone control and can result in permanent visual impairment in chronic non-infectious uveitis.

Abbreviations

AAU, acute anterior uveitis; ET-1, endothelin-1; ETA, endothelin receptor A; ETB, endothelin receptor B; GCs, glucocorticosteroids; IL, interleukin; NO, nitric oxide; NF, nuclear factor; SUN, Standardization of Uveitis Nomenclature; ST2, suppression of tumorigenicity 2; TNF, tumor necrosis factor; TSLP, thymic stromal lymphopoietin; VD, vascular dysregulation; VSMC, vascular smooth muscle cells.

Data Sharing Statement

The original data used to support the findings of this study are available from the corresponding authors upon request.

Acknowledgments

We would like to thank the Pediatric University Hospital in Białystok for assistance in conducting the study. This study was supported but not funded by the Medical University of Białystok.

Disclosure

The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

- Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol.* 2005;140(3):509–516.
- Deschenes J, Murray PI, Rao NA, Nussenblatt RB. International Uveitis Study Group (IUSG): clinical classification of uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2008;16(1):1–2. doi:10.1080/09273940801899822
- Tugal-Tutkun I. Pediatric uveitis. *J Ophthalmic Vis Res.* 2011;6(4):259–269.
- Chan NS-W, Choi J, Cheung CMG. Pediatric uveitis. *Asia Pac J Ophthalmol (Phia).* 2018;7(3):192–199.
- Paivönsalo-Hietanen T, Tuominen J, Saari KM. Uveitis in children: population-based study in Finland. *Acta Ophthalmol Scand.* 2000;78(1):84–88. doi:10.1034/j.1600-0420.2000.078001084.x
- Edelsten C, Reddy MA, Stanford MR, Graham EM. Visual loss associated with pediatric uveitis in English primary and referral centers. *Am J Ophthalmol.* 2003;135(5):676–680. doi:10.1016/S0002-9394(02)02148-7
- Mesquida M, Molins B, Llorenç V, et al. Proinflammatory cytokines and C-reactive protein in uveitis associated with Behçet's disease. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:396204.
- García-De-Vicuña C, Díaz-Llopis M, Salom D, et al. Usefulness of adalimumab in the treatment of refractory uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:560632. doi:10.1155/2013/560632
- Sen ES, Dick AD, Ramanan AV. Uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2015;11(6):338–348.
- Rosenbaum JT. Uveitis: an internist's view. *Arch Intern Med.* 1989;149(5):1173–1176. doi:10.1001/archinte.1989.00390050129026
- Rosenbaum JT. Nibbling away at the diagnosis of idiopathic uveitis. *JAMA Ophthalmol.* 2015;133(2):146–147. doi:10.1001/jamaophthalmol.2014.4272
- Kaiser PK, Lowder CY, Sullivan P, et al. Chest computerized tomography in the evaluation of uveitis in elderly women. *Am J Ophthalmol.* 2002;133(4):499–505. doi:10.1016/S0002-9394(02)01333-8
- de Groot-mijnes JD, de Visser L, Zuurveen S, et al. Identification of new pathogens in the intraocular fluid of patients with uveitis. *Am J Ophthalmol.* 2010;150(5):628–636. doi:10.1016/j.ajo.2010.05.015
- Jain A. Endothelin-1-induced endoplasmic reticulum stress in disease. *J Pharmacol Exp Ther.* 2013;346(2):163–172. doi:10.1124/jpet.113.205567
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature.* 1988;332(6163):411–415. doi:10.1038/332411a0
- Hynynen MM, Khalil RA. The vascular endothelin system in hypertension—recent patents and discoveries. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov.* 2006;1(1):95–108. doi:10.2174/157489006775244263
- Kawamura H, Oku H, Li Q, Sakagami K, Puro DG. Endothelin-induced changes in the physiology of retinal pericytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2002;43(3):882–888.
- Taniguchi T, Okada K, Haque MS, Sugiyama K, Kitazawa Y. Effects of endothelin-1 on intraocular pressure and aqueous humor dynamics in the rabbit eye. *Curr Eye Res.* 1994;13(6):461–464.
- Shoji N, Oshika T, Masuda K. Endothelin-1 and intraocular inflammation in pigmented rabbit eyes. *Jpn J Ophthalmol.* 1997;41(3):150–153. doi:10.1016/S0021-5155(97)00032-4
- Er H, Evereklioglu C, Cumurcu T, et al. Serum homocysteine level is increased and correlated with endothelin-1 and nitric oxide in Behçet's disease. *Br J Ophthalmol.* 2002;86(6):653–657.
- Shoji N, Oshika T, Masuda K. [Endothelin-1 and intraocular inflammation in pigmented rabbit eyes]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi.* 1995;99(6):631–635.
- Shoji N, Oshika T, Amano S, Masuda K. Effects of endothelin receptor antagonists on anterior chamber inflammation induced by intravitreal injection of endothelin-1. *Exp Eye Res.* 1999;69(4):437–444. doi:10.1006/exer.1999.0721
- Keles S, Halici Z, Atmaca HT, et al. The ocular endothelin system: a novel target for the treatment of endotoxin-induced uveitis with bosentan. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(6):3517–3524. doi:10.1167/iovs.14-14193
- Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, et al. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. *Ophthalmology.* 1985;92:467–471. doi:10.1016/S0161-6420(85)34001-0
- Zierhut M, Deuter C, Murray FI. Classification of Uveitis – Current Guidelines. *European Ophthalmic Review.* 2007;77–78. doi:10.17925/EOR.2007.00.00.77
- Kur J, Newman EA, Chan-Ling T. Cellular and physiological mechanisms underlying blood flow regulation in the retina and choroid in health and disease. *Prog Retin Eye Res.* 2012;31(5):377–406. doi:10.1016/j.preteyeres.2012.04.004
- Flammer J, Konieczka K, Flammer AJ. The primary vascular dysregulation syndrome: implications for eye diseases. *EPMA J.* 2013;4(1):14.

28. Predel HG, Meyer-Lehnert H, Bäcker A, Stelkens H, Kramer HJ. Plasma concentrations of endothelin in patients with abnormal vascular reactivity. Effects of ergometric exercise and acute saline loading. *Life Sci.* 1990;47(20):1837–1843. doi:10.1016/0024-3205(90)90286-Z
29. Shichiri M, Hirata Y, Ando K, et al. Postural change and volume expansion affect plasma endothelin levels. *JAMA.* 1990;263(5):661. doi:10.1001/jama.1990.03440050055027
30. Warner TD, Battistini B, Doherty AM, Corder R. Endothelin receptor antagonists: actions and rationale for their development. *Biochem Pharmacol.* 1994;48(4):625–635. doi:10.1016/0006-2952(94)90038-8
31. Marini M, Carpi S, Bellini A, Patalano F, Mattoli S. Endothelin-1 induces increased fibronectin expression in human bronchial epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;220(3):896–899. doi:10.1006/bbrc.1996.0502
32. Kohno M, Murakawa K, Yasunari K, et al. Prolonged blood pressure elevation after endothelin administration in bilaterally nephrectomized rats. *Metabolism.* 1989;38(8):712–713. doi:10.1016/0026-0495(89)90054-1
33. Cargill RI, Kiely DG, Clark RA, Lipworth BJ. Hypoxaemia and release of endothelin-1. *Thorax.* 1995;50(12):1308–1310. doi:10.1136/thx.50.12.1308
34. Ferri C, Bellini C, De Angelis C, et al. Circulating endothelin-1 concentrations in patients with chronic hypoxia. *J Clin Pathol.* 1995;48(6):519–524. doi:10.1136/jcp.48.6.519
35. Ohguro H, Mashima Y, Nakazawa M. Low levels of plasma endothelin-1 in patients with retinitis pigmentosa. *Clin Ophthalmol.* 2010;4:569–573. doi:10.2147/OPTH.S9152
36. Powierza K, Żelazowska-Rutkowska B, Sawicka-Powierza J, et al. Endothelin-1 serum concentration is lower in children and adolescents with high myopia, a preliminary study. *J Clin Med.* 2020;9(5):1327. doi:10.3390/jcm9051327
37. Freeman BD, Machado FS, Tanowitz HB, Desruisseaux MS. Endothelin-1 and its role in the pathogenesis of infectious diseases. *Life Sci.* 2014;118(2):110–119. doi:10.1016/j.lfs.2014.04.021
38. Masaki T, Yanagisawa M, Inoue A, Kimura S, Goto K. Study on the endothelin gene and its expression. *Jpn Circ J.* 1990;54(9):1221–1225. doi:10.1253/jcj.54.1221
39. Yeager ME, Belchenko DD, Nguyen CM, et al. Endothelin-1, the unfolded protein response, and persistent inflammation: role of pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2012;46:14–22. doi:10.1165/rcmb.2010-0506OC
40. Virdis A, Schiffrin EL. Vascular inflammation: a role in vascular disease in hypertension? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003;12:181–187.
41. Abd Rachman Isnadi MF, Chin VK, Abd Majid R, et al. Critical roles of IL-33/ST2 pathway in neurological disorders. *Mediators Inflamm.* 2018;2018:5346413. doi:10.1155/2018/5346413
42. Divekar R, Kita H. Recent advances in epithelium-derived cytokines (IL-33, IL-25, and thymic stromal lymphopoietin) and allergic inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2015;15(1):98–103. doi:10.1097/ACI.0000000000000133
43. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity.* 2005;23(5):479–490. doi:10.1016/j.immuni.2005.09.015
44. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): a nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol Rev.* 2018;281(1):154–168. doi:10.1111/imr.12619
45. Qian Y, Zhang M. The functional roles of IL-33/ST2 axis in ocular diseases. *Mediators Inflamm.* 2020;2020:5230716. doi:10.1155/2020/5230716
46. Barbour M, Allan D, Xu H, et al. IL-33 attenuates the development of experimental autoimmune uveitis. *Eur J Immunol.* 2014;44(11):3320–3329. doi:10.1002/eji.201444671
47. Koca SS, Kara M, Deniz F, et al. Serum IL-33 level and IL-33 gene polymorphisms in Behçet's disease. *Rheumatol Int.* 2015;35(3):471–477. doi:10.1007/s00296-014-3111-2
48. Zhao B, Chen W, Jiang R, et al. Expression profile of IL-1 family cytokines in aqueous humor and sera of patients with HLA-B27 associated anterior uveitis and idiopathic anterior uveitis. *Exp Eye Res.* 2015;138:80–86. doi:10.1016/j.exer.2015.06.018
49. Bierly JR, Nozik RA. Management of uveitis. *Curr Opin Ophthalmol.* 1992;3(4):527–533. doi:10.1097/00055735-199208000-00015
50. de Vos AF, van Haren MA, Verhagen C, Hoekzema R, Kijlstra A. Kinetics of intraocular tumor necrosis factor and interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35(3):1100–1106.
51. de Vos AF, Hoekzema R, Kijlstra A. Cytokines and uveitis, a review. *Curr Eye Res.* 1992;11(6):581–597. doi:10.3109/02713689209001814
52. Schnabel A, Unger E, Brück N, et al. High-dose intravenous methylprednisolone in juvenile non-infectious uveitis: a retrospective analysis. *Clin Immunol.* 2019;211:108327. doi:10.1016/j.clim.2019.108327
53. Calderón E, Gómez-Sánchez CE, Cozza EN, et al. Modulation of endothelin-1 production by a pulmonary epithelial cell line. I. Regulation by glucocorticoids. *Biochem Pharmacol.* 1994;48(11):2065–2071.
54. Floman N, Zor U. Mechanism of steroid action in ocular inflammation: inhibition of prostaglandin production. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977;16(1):69–73.
55. Andersson SE, Zackrisson C, Hemsén A, Lundberg JM. Regulation of lung endothelin content by the glucocorticosteroid budesonide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;188(3):1116–1121. doi:10.1016/0006-291X(92)91347-S
56. Tseimakh I, Momot AP, Kostuchenko GI, et al. Role of endothelial dysfunction, the interface between hemostatic and system inflammatory responses in the pathogenesis of an infectious inflammation-dependent exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease. *Ter Arkh.* 2013;85(3):17–22.

Clinical Ophthalmology downloaded from <https://www.dovepress.com/> by 79.188.216.50 on 08-Aug-2021
For personal use only.

Clinical Ophthalmology

Publish your work in this journal

Clinical Ophthalmology is an international, peer-reviewed journal covering all subspecialties within ophthalmology. Key topics include: Optometry; Visual science; Pharmacology and drug therapy in eye diseases; Basic Sciences; Primary and Secondary eye care; Patient Safety and Quality of Care Improvements. This journal is indexed on PubMed

Submit your manuscript here: <https://www.dovepress.com/clinical-ophthalmology-journal>

Dovepress

Central and CAS, and is the official journal of The Society of Clinical Ophthalmology (SCO). The manuscript management system is completely online and includes a very quick and fair peer-review system, which is all easy to use. Visit <http://www.dovepress.com/testimonials.php> to read real quotes from published authors.

6. Streszczenie

Streszczenie w języku polskim

Endotelina-1 (ET-1, enothelin-1) jest szeroko rozpowszechniona w ludzkich tkankach i wydzielana głównie przez naczyniowe komórki mięśni gładkich (VSMC, vascular smooth muscle cells). Odpowiada za silny skurcz naczyń krwionośnych i przyczynia się do rozwoju procesów zapalnych.

Krótkowzroczność jest jedną z najczęstszych chorób gałki ocznej występującej na świecie. Patologiczna lub wysoka krótkowzroczność jest zwykle definiowana jako równoważnik sferyczny wady (SE) $\geq -6,00$ dioprii (D, diopter) lub długość gałki ocznej > 26 mm. Istnieje wiele doniesień w literaturze na temat zaangażowania czynników środowiskowych i genetycznych w rozwój i progresję krótkowzroczności, ale dane dotyczące mechanizmów komórkowych są ograniczone.

Zapalenie błony naczyniowej oka jest zapaleniem warstwy oka, która wyściela wewnątrz oka za rogówką. Doniesienia naukowe dostarczają dowodów na temat znaczenia wysokiego stężenia ET-1 w zapaleniu błony naczyniowej związanej ze schorzeniami reumatologicznymi lub w indukowanych zapaleniach błony naczyniowej oka na modelach zwierzęcych, ale poziom ET-1 w przewlekłym idiopatycznym zapaleniu błony naczyniowej nie został do tej pory zbadany.

Celem badania była ocena stężenia ET-1 we krwi dzieci i młodzieży z wysoką krótkowzrocznością oraz jego związku z długością gałki ocznej i obecnością zmian zwyrodnieniowych w siatkówce. Celem drugiego badania było oznaczenie stężenia ET-1 we krwi dzieci i młodzieży z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka oraz jego związku z anatomiczną lokalizacją i stopniem nasilenia zmian zapalnych w oku.

Badanie przekrojowe przeprowadzono wśród 57 pacjentów z wysoką krótkowzrocznością i 29 osób z grupy kontrolnej oraz u 17 pacjentów z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka i 22 zdrowych osób. W obu badaniach grupa kontrolna była dobrana pod względem wieku i płci. Stężenie ET-1 w surowicy mierzono za pomocą zestawu testu immunoenzymatycznego (ELISA).

Stwierdzono istotnie niższe stężenie ET-1 u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością w porównaniu do grupy kontrolnej (mediana (Q1; Q3): 1,47 (0,91; 1,87) vs 1,94 (1,1; 2,69) pg/mL, $p = 0,005$). Nie stwierdzono korelacji pomiędzy stężeniem ET-1 a wiekiem, zarówno

u pacjentów z wysoką krótkowzrocznością jak i w grupie kontrolnej (odpowiednio: $r = 0,124, p = 0,364$ i $r = 0,069, p = 0,772$). U pacjentów z wysoką krótkowzrocznością stwierdzono słabą ujemną korelację pomiędzy stężeniem ET-1 a najdłuższą długością gałki ocznej wybraną spośród obu oczu ($r = -0,255, p = 0,0558$).

Dalsza analiza, nie wykazała istotnych różnic pomiędzy stężeniem ET-1 w różnych podgrupach pacjentów, gdy wzięto pod uwagę płeć ($p = 0,841$), wiek ($p = 0,942$) i obecność zaniku naczyńkowo-siatkówkowego ($p = 0,649$). Wszyscy pacjenci z obwodowym zanikiem naczyńkowo-siatkówkowym mieli długość gałki ocznej > 26 mm. Istotnie niższe stężenie ET-1 wykazano u pacjentów z długością gałki ocznej > 26 mm w porównaniu do pacjentów z długością gałki ocznej ≤ 26 mm [mediana (Q1; Q3): 1,23 (0,78; 1,72) vs 1,61 (1,12; 2,04) pg/mL, $p < 0,041$] i grupą kontrolną [mediana (Q1; Q3): 1,23 (0,78; 1,72) vs 1,94 (1,1; 2,69) pg/mL, $p < 0,001$]. Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu ET-1 pomiędzy pacjentami z długością gałki ocznej ≤ 26 mm a grupą kontrolną.

Istotnie statystycznie niższe stężenie ET-1 stwierdzono u pacjentów z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka w porównaniu do grupy kontrolnej [mediana (Q1; Q3): 1,33 (1,22; 1,48) vs 1,93 (1,1; 3,11) pg/mL, $p = 0,008$]. Nie stwierdzono korelacji między stężeniem ET-1 a wiekiem, ani u pacjentów z przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka ani u osób z grupy kontrolnej.

Dziewięciu z 17 pacjentów prezentowało zapalenie przedniego odcinka, pięciu części tylnej i troje zapalenie całej błony naczyniowej oka. Nie stwierdzono różnic w stężeniu ET-1 pomiędzy zapaleniem przedniego odcinka, części tylnej i zapaleniem całej błony naczyniowej oka [odpowiednio: mediana (Q1; Q3): 1,37 (1,28; 1,48) vs 1,22 (0,95; 1,39) vs 1,33 (1,22; 1,50) pg/mL; $p = 0,634$].

Nie obserwowano istotnych różnic w stężeniu ET-1 pomiędzy różnymi stopniami zapalenia błony naczyniowej oka: pomiędzy stopniem 0.5+ vs 1+, w których oceniano ilość komórek zapalnych w przedniej komorze oka [mediana (Q1; Q3): 1,44 (1,1; 1,52) vs 1,33 (1,28; 1,37) pg/mL; $p = 0,745$], pomiędzy stopniem 1+ vs 2+, w których oceniano przymglenie cieczy wodnistej w komorze przedniej oka [mediana (Q1; Q3): 1,44 (1,22; 1,50) vs 1,33 (1,28; 1,37) pg/mL; $p = 0,711$], oraz pomiędzy stopniem 1 vs 2, w których oceniano przymglenie ciała szklistego [mediana (Q1; Q3): 1,27 (1,22; 1,50) vs 1,17 (0,95; 1,39) pg/mL; $p = 0,868$].

Działanie ET-1 może być upośledzone u dzieci i młodzieży z wysoką krótkowzrocznością i przewlekłym idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka.

Niskie stężenie ET-1 u pacjentów z długością gałki ocznej > 26 mm i z obecnością zaników naczyńwkowo-siatkówkowych, może współwystępować z wysoką krótkowzrocznością i należy je traktować jako czynnik ryzyka w patofizjologii progresji wysokiej krótkowzroczności.

U pacjentów z idiopatycznym zapaleniem błony naczyniowej oka, niezależnie od anatomicznej lokalizacji i stopnia nasilenia zmian zapalnych w oku, stwierdzono niskie stężenie ET-1 we krwi. Wyciągnęliśmy wniosek, że niskie poziomy ET-1 mogą odgrywać kluczową rolę w zaburzeniu kontroli napięcia naczyń i mogą być przyczyną przewlekłego upośledzenia widzenia w przewlekłym idiopatycznym zapaleniu błony naczyniowej oka.

Streszczenie w języku angielskim

Endothelin-1 (ET-1) is widely distributed in human tissues and is secreted mainly by vascular smooth muscle cells (VSMC). It is responsible for strong vasoconstriction and contributes to the development of inflammatory processes.

Myopia is one of the most common eye disorders in the world. Pathological or high myopia is usually defined as the spherical equivalent (SE) ≥ -6.00 diopters (D) or the axial length of the eye > 26 mm. There are numerous literature reports on the involvement of environmental and genetic factors in the development and progression of myopia, but there is limited data regarding cellular mechanisms.

Uveitis is the inflammation of the uveal tract which lines the inside of the eye behind the cornea. Many scientific reports provide data on the significance of higher ET-1 concentration in uveitis associated with rheumatological diseases or in induced uveitis on animal models, but ET-1 level in chronic idiopathic uveitis has not been established to date.

The study aimed to evaluate the concentration of ET-1 in the blood of children and adolescents with high myopia and its association with the axial length of the eye and the presence of myopic retinal degeneration. The purpose of the second study was to determine ET-1 concentration in the blood of children and adolescents with chronic idiopathic uveitis and its relationship to the anatomical location and grade of inflammation.

The cross-sectional studies were carried out in 57 patients with high myopia and 29 control subjects and 17 patients with chronic idiopathic uveitis and 22 healthy controls. In both studies, control groups were matched by age and sex. Serum concentrations of ET-1 were measured using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit.

A significantly lower concentration of ET-1 in highly myopic patients compared to controls was found (median (Q1; Q3): 1.47 (0.91; 1.87) vs 1.94 (1.1; 2.69) pg/mL, $p = 0.005$). No correlation was established between ET-1 concentration and age, either in highly myopic patients or controls ($r = 0.124$, $p = 0.364$ or $r = 0.069$, $p = 0.772$, respectively). In patients with high myopia, a weak negative correlation between ET-1 concentration and the longest axial length out of the two eyes was found ($r = -0.255$, $p = 0.0558$).

In further analysis, no significant differences were found between ET-1 concentrations in different patient subgroups when gender ($p = 0.841$), age ($p = 0.942$) and presence of peripheral chorioretinal atrophy ($p = 0.649$) were taken into consideration. All patients with peripheral chorioretinal atrophy had the axial length of the eye > 26 mm. Significantly lower ET-1 concentration was found in patients with the axial length of the eye > 26 mm in comparison to those with the axial length ≤ 26 mm [median (Q1; Q3): 1.23 (0.78; 1.72) vs 1.61 (1.12; 2.04) pg/mL, $p < 0.041$] and controls [median (Q1; Q3): 1.23 (0.78; 1.72) vs 1.94 (1.1; 2.69) pg/mL, $p < 0.001$]. There was no difference between ET-1 concentration in patients with the axial length of the eye ≤ 26 mm and controls.

Statistically significant lower ET-1 concentration in patients with chronic idiopathic uveitis in comparison to controls was found [median (Q1; Q3): 1.33 (1.22; 1.48) vs 1.93 (1.1; 3.11), $p = 0.008$]. No correlations were found between ET-1 concentration and age, either in chronic idiopathic uveitis patients or controls.

Nine out of 17 patients presented with anterior uveitis, 5 with posterior and 3 with panuveitis. There were no differences in ET-1 concentrations between anterior, posterior and panuveitis [median (Q1; Q3): 1.37 (1.28; 1.48) vs 1.22 (0.95; 1.39) vs 1.33 (1.22; 1.50) pg/mL; $p = 0.634$, respectively].

No significant differences in ET-1 concentration between varying grades of ocular inflammation in uveitis were observed: between grade 0.5+ vs 1+, where the number of inflammatory cells in anterior chamber of the eye was assessed [median (Q1; Q3): 1.44 (1.1; 1.52) vs 1.33 (1.28; 1.37) pg/mL; $p = 0.745$], between grade 1+ vs 2+, where anterior chamber flare was evaluated [median (Q1; Q3): 1.44 (1.22; 1.50) vs 1.33 (1.28; 1.37) pg/mL; $p = 0.711$] and between grade 1 vs 2, where vitreous haze was assessed [median (Q1; Q3): 1.27 (1.22; 1.50) vs 1.17 (0.95; 1.39) pg/mL; $p = 0.868$].

The effects of ET-1 may be impaired in children and adolescents with high myopia and chronic idiopathic uveitis.

Lower ET-1 concentration in patients with the axial length of the eye > 26 mm or with the presence of peripheral chorioretinal atrophy, may co-occur with high myopia and should be considered as a risk factor in the pathophysiology of high myopia progression.

ET-1 concentration in patients with chronic idiopathic uveitis was decreased irrespective of the anatomical location and grade of ocular inflammation. We conclude that lower ET-1 levels play a crucial role in disturbed vascular tone control and can result in permanent visual impairment in chronic idiopathic uveitis.

7. Literatura/piśmiennictwo.

1. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, Masaki T. The human endothelin family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86(8):2863–7.
2. Jain A. Endothelin-1-induced endoplasmic reticulum stress in disease. *J Pharmacol Exp Ther*. 2013;346(2):163–72.
3. Gray GA, Webb DJ. The endothelin system and its potential as a therapeutic target in cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*. 1996;72(2):109–48.
4. Lüscher TF. Endothelium-derived vasoactive factors and regulation of vascular tone in human blood vessels. *Lung*. 1990;168 Suppl:27–34.
5. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988;332(6163):411–5.
6. Hynynen MM, Khalil RA. The vascular endothelin system in hypertension-recent patents and discoveries. *Recent Pat Cardiovasc Drug Discov*. 2006;1(1):95–108.
7. Kowalczyk A, Kleniewska P, Kolodziejczyk M, Skibska B, Goraca A. The role of endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in inflammatory response and sepsis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015;63(1):41–52.
8. Yeager ME, Belchenko DD, Nguyen CM, Colvin KL, Ivy DD, Stenmark KR. Endothelin-1, the unfolded protein response, and persistent inflammation: role of pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2012;46(1):14–22.
9. Virdis A, Schiffrin EL. Vascular inflammation: a role in vascular disease in hypertension? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2003;12(2):181–7.
10. Salvatore S, Vingolo EM. Endothelin-1 role in human eye: a review. *J Ophthalmol*. 2010;2010:354645.
11. Kawamura H, Oku H, Li Q, Sakagami K, Puro DG. Endothelin-induced changes in the physiology of retinal pericytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:882–8.
12. Taniguchi T, Okada K, Haque MS, Sugiyama K, Kitazawa Y. Effects of endothelin-1 on intraocular pressure and aqueous humor dynamics in the rabbit eye. *Curr Eye Res*. 1994;13(6):461–4.
13. Predel HG, Meyer-Lehnert H, Bäcker A, Stelkens H, Kramer HJ. Plasma concentrations of endothelin in patients with abnormal vascular reactivity. Effects of ergometric exercise and acute saline loading. *Life Sci*. 1990;47(20):1837–43.
14. Shichiri M, Hirata Y, Ando K, Kanno K, Emori T, Ohta K, Marumo F. Postural change and volume expansion affect plasma endothelin levels. *JAMA*. 1990;263(5):661.

15. Abassi ZA, Tate JE, Golomb E, Keiser HR. Role of neutral endopeptidase in the metabolism of endothelin. *Hypertension*. 1992;20(1):89–95.
16. Fukuroda T, Fujikawa T, Ozaki S, Ishikawa K, Yano M, Nishikibe M. Clearance of circulating endothelin-1 by ETB receptors in rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;199(3):1461–5.
17. Ozaki S, Ohwaki K, Ihara M, Fukuroda T, Ishikawa K, Yano M. ETB-mediated regulation of extracellular levels of endothelin-1 in cultured human endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1995;209(2):483–9.
18. de Nucci G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, Vane JR. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85(24):9797–800.
19. Fagny C, Michel A, Nortier J, Deschodt-Lanckman M. Enzymatic degradation of endothelin-1 by activated human polymorphonuclear neutrophils. *Regul Pept*. 1992 Nov;42(1-2):27–37.
20. Kohno M, Murakawa K, Yasunari K, Yokokawa K, Horio T, Kurihara N, Takeda T. Prolonged blood pressure elevation after endothelin administration in bilaterally nephrectomized rats. *Metabolism* 1989;38:712–13.
21. Ikuno Y, Tano Y. Retinal and choroidal biometry in highly myopic eyes with spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(8):3876–80.
22. Fujiwara T, Imamura Y, Margolis R, Slakter JS, Spaide RF. Enhanced depth imaging optical coherence tomography of the choroid in highly myopic eyes. *Am J Ophthalmol*. 2009;148(3):445–50.
23. Fujiwara A, Shiragami C, Shirakata Y, Manabe S, Izumibata S, Shiraga F. Enhanced depth imaging spectral-domain optical coherence tomography of subfoveal choroidal thickness in normal Japanese eyes. *Jpn J Ophthalmol*. 2012;56:230–5.
24. Chen FK, Yeoh J, Rahman W, Patel PJ, Tufail A, Da Cruz L. Topographic variation and interocular symmetry of macular choroidal thickness using enhanced depth imaging optical coherence tomography. *Investig. Ophthalmol. Vis Sci*. 2012;53:975–985.
25. Zheng Q, Zong Y, Li L, Huang X, Lin L, Yang W, Yuan Y, Li Y, He H, Gao Q. Retinal vessel oxygen saturation and vessel diameter in high myopia. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2015;35:562–9.
26. Tsou JK, Gower RM, Ting HJ, Schaff UY, Insana MF, Passerini AG, Simon SI. Spatial regulation of inflammation by human aortic endothelial cells in a linear gradient of shear stress. *Microcirculation* 2008;15:311–23.
27. Holme PA, Orvim U, Hamers MJ, Solum NO, Brosstad FR, Barstad RM, Sakariassen KS. Shear-induced platelet activation and platelet microparticle formation at blood flow conditions as in arteries with a severe stenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(4):646–53.
28. Kur J, Newman EA, Chan-Ling T. Cellular and physiological mechanisms underlying blood flow regulation in the retina and choroid in health and disease. *Prog Retin Eye Res*. 2012;31(5):377–406.
29. Flammer J, Konieczka K, Flammer AJ. The primary vascular dysregulation syndrome: implications for eye diseases. *EPMA J*. 2013;4(1):14.
30. Grzybowski A, Kanclerz P, Tsubota K, Lanca C, Saw SM. A review on the epidemiology of myopia in school children worldwide. *BMC Ophthalmol*. 2020;20:27.
31. Rudnicka AR, Kapetanakis VV, Wathern AK, Logan NS, Gilmartin B, Whincup PH, Cook DG, Owen CG. Global variations and time trends in the prevalence of childhood myopia, a systematic review and quantitative meta-analysis: Implications for aetiology and early prevention. *Br. J. Ophthalmol*. 2016;100:882–890.

32. Tedja MS, Haarman AEG, Meester-Smoor MA, Kaprio J, Mackey DA, Guggenheim JA, Hammond CJ, Verhoeven VJM, Klaver CCW, CREAM Consortium. IMI—Myopia Genetics Report. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2019;60:M89–M105.
33. Curtin BJ, Whitmore WG. Long-term results of scleral reinforcement surgery. *Am J Ophthalmol.* 1987;103(4):544–8.
34. Nagaoka N, Ohno-Matsui K, Saka N, Tokoro T, Mochizuki M. Clinical characteristics of patients with congenital high myopia. *Jpn J Ophthalmol.* 2011;55(1):7–10.
35. Shih YF, Ho TC, Hsiao CK, Lin LL. Long-term visual prognosis of infantile-onset high myopia. *Eye (Lond).* 2006;20(8):888–92.
36. Prousalis E, Mataftsi A, Ziakas N, Fontalis A, Brazitikos P, Haidich AB. Interventions to control myopia progression in children: protocol for an overview of systematic reviews and meta-analyses. *Syst Rev.* 2017;6(1):188.
37. Ohno-Matsui K. WHAT IS THE FUNDAMENTAL NATURE OF PATHOLOGIC MYOPIA? *Retina.* 2017;37(6):1043–8.
38. Silva R. Myopic maculopathy: a review. *Ophthalmologica.* 2012;228(4):197–213.
39. Wolf S, Balciuniene VJ, Laganovska G, Menchini U, Ohno-Matsui K, Sharma T, Wong TY, Silva R, Pilz S, Gekkieva M; RADIANCE Study Group. RADIANCE: a randomized controlled study of ranibizumab in patients with choroidal neovascularization secondary to pathologic myopia. *Ophthalmology.* 2014;121(3):682–92.e2.
40. Kański JJ. Krótkowzroczność degeneracyjna. *Okulistyka kliniczna. Tłum. Anna Wójcik-Gryciuk pod redakcją Jerzego Szaflika, Wrocław 2009, s. 698.*
41. Ohno-Matsui K, Kawasaki R, Jonas JB, Cheung CM, Saw SM, Verhoeven VJ, Klaver CC, Moriyama M, Shinohara K, Kawasaki Y, Yamazaki M, Meuer S, Ishibashi T, Yasuda M, Yamashita H, Sugano A, Wang JJ, Mitchell P, Wong TY; META-analysis for Pathologic Myopia (META-PM) Study Group. International photographic classification and grading system for myopic maculopathy. *Am J Ophthalmol.* 2015;159(5):877–83.e7.
42. Rose K, Harper R, Tromans C, Waterman C, Goldberg D, Haggerty C, Tullo A. Quality of life in myopia. *Br J Ophthalmol.* 2000;84(9):1031–4.
43. Fitzgerald DE, Chung I, Krumholtz I. An analysis of high myopia in a pediatric population less than 10 years of age. *Optometry* 2005;76:102–14.
44. Morgan IG, Ohno-Matsui K, Saw SM. Myopia. *Lancet* 2012;379:1739–1748.
45. Paivönsalo-Hietanen T, Tuominen J, Saari KM. Uveitis in children: population-based study in Finland. *Acta Ophthalmol Scand.* 2000;78(1):84–8.
46. Edelsten C, Reddy MA, Stanford MR, Graham EM. Visual loss associated with pediatric uveitis in English primary and referral centers. *Am J Ophthalmol.* 2003;135(5):676–80.
47. Standardization of Uveitis Nomenclature (SUN) Working Group. Standardization of uveitis nomenclature for reporting clinical data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol.* 2005;140(3):509–516.
48. Deschenes J, Murray PI, Rao NA, Nussenblatt RB. International Uveitis Study Group (IUSG): clinical classification of uveitis. *Ocul Immunol Inflamm.* 2008;16(1):1–2.
49. Tugal-Tutkun I. Pediatric uveitis. *J Ophthalmic Vis Res.* 2011;6(4):259–269.
50. Chan NS-W, Choi J, Cheung CMG. Pediatric uveitis. *Asia Pac J Ophthalmol (Phia).* 2018;7(3):192–199.
51. Mesquida M, Molins B, Llorenç V, Sainz de la Maza M, Hernandez MV, Espinosa G, Adán A. Proinflammatory cytokines and C-reactive protein in uveitis associated with Behçet's disease. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:396204.
52. García-De-Vicuña C, Díaz-Llopis M, Salom D, Bou R, Díaz-Cascajosa J, Cordero-Coma M, Ortega G, Ortego-Centeno N, Suarez-De-Figueroa M, Cruz-Martínez J, Fonollosa A, Blanco R, García-Aparicio AM, Benítez-Del-Castillo JM, Antón J. Usefulness of

- adalimumab in the treatment of refractory uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Mediators Inflamm.* 2013;2013:560632.
53. Sen ES, Dick AD, Ramanan AV. Uveitis associated with juvenile idiopathic arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* 2015;11(6):338–48.
54. Kański JJ. Zapalenie błony naczyniowej. *Okulistyka kliniczna.* Tłum. Joanna Jędrzejczak-Młodziejewska pod redakcją Jerzego Szaflika, Wrocław 2009, s.473–541.
55. Roldán-Pallarés M, Rollín R, Mediero A, Martínez-Montero JC, Fernández-Cruz A, Bravo-Llata C, Fernández-Durango R. Immunoreactive ET-1 in the vitreous humor and epiretinal membranes of patients with proliferative vitreoretinopathy. *Mol Vis.* 2005;11:461–71.
56. Er H, Evereklioglu C, Cumurcu T, Türköz Y, Ozerol E, Sahin K, Doganay S. Serum homocysteine level is increased and correlated with endothelin-1 and nitric oxide in Behçet's disease. *Br J Ophthalmol.* 2002;86(6):653–7.
57. Shoji N, Oshika T, Masuda K. Endothelin-1 and intraocular inflammation in pigmented rabbit eyes. *Jpn J Ophthalmol.* 1997;41(3):150–153.
58. Shoji N, Oshika T, Amano S, Masuda K. Effects of endothelin receptor antagonists on anterior chamber inflammation induced by intravitreal injection of endothelin-1. *Exp Eye Res.* 1999;69(4):437–44.
59. Keles S, Halici Z, Atmaca HT, Yayla M, Yildirim K, Ekinci M, Akpinar E, Altuner D, Cakici O, Bayraktutan Z. The ocular endothelin system: a novel target for the treatment of endotoxin-induced uveitis with bosentan. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2014;55(6):3517–24.
60. Nussenblatt RB, Palestine AG, Chan CC, Roberge F. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. *Ophthalmology.* 1985;92(4):467–71.
61. Zierhut M, Deuter C, Murray FI. Classification of Uveitis – Current Guidelines. *European Ophthalmic Review.* 2007;77–8.
62. Grudzińska E, Modrzejewska M. Modern Diagnostic Techniques for the Assessment of Ocular Blood Flow in Myopia: Current State of Knowledge. *J Ophthalmol.* 2018;2018:4694789.
63. Fleming I, Busse R. Signal transduction of eNOS activation. *Cardiovasc Res.* 1999;43:532–41.
64. Ohguro H, Mashima Y, Nakazawa M. Low levels of plasma endothelin-1 in patients with retinitis pigmentosa. *Clin Ophthalmol.* 2010;4:569–73.
65. Warner TD, Battistini B, Doherty AM, Corder R. Endothelin receptor antagonists: actions and rationale for their development. *Biochem Pharmacol.* 1994;48(4):625–35.
66. Marini M, Carpi S, Bellini A, Patalano F, Mattoli S. Endothelin-1 induces increased fibronectin expression in human bronchial epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;220(3):896–99.
67. Bierly JR, Nozik RA. Management of uveitis. *Curr Opin Ophthalmol.* 1992;3(4):527–33.
68. de Vos AF, van Haren MA, Verhagen C, Hoekzema R, Kijlstra A. Kinetics of intraocular tumor necrosis factor and interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis in the rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35(3):1100–6.
69. de Vos AF, Hoekzema R, Kijlstra A. Cytokines and uveitis, a review. *Curr Eye Res.* 1992;11(6):581–97.
70. Schnabel A, Unger E, Brück N, Berner R, Range U, Holl-Wieden A, Morbach H, Leszczynska A, Bau V, Hedrich CM. High-dose intravenous methylprednisolone in juvenile non-infectious uveitis: A retrospective analysis. *Clin Immunol.* 2020;211:108327.

71. Calderón E, Gómez-Sánchez CE, Cozza EN, Zhou M, Coffey RG, Lockey RF, Prockop LD, Szentivanyi A. Modulation of endothelin-1 production by a pulmonary epithelial cell line. I. Regulation by glucocorticoids. *Biochem Pharmacol.* 1994;48(11):2065–71.
72. Andersson SE, Zackrisson C, Hemsén A, Lundberg JM. Regulation of lung endothelin content by the glucocorticosteroid budesonide. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;188(3):1116–21.
73. Tseimakh Iia, Momot AP, Kostiuhenko GI, Mamaev AN, Filonova IuA, Kornilova TA, Chuchalin AG. [Role of endothelial dysfunction, the interface between hemostatic and system inflammatory responses in the pathogenesis of an infectious inflammation-dependent exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease]. *Ter Arkh.* 2013;85(3):17–22.
74. Floman N, Zor U. Mechanism of steroid action in ocular inflammation: inhibition of prostaglandin production. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1977;16(1):69–73.
75. Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreiter ER, McKenzie AN, Lee RT. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J Clin Invest.* 2007;117(6):1538–49.
76. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): a nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol Rev.* 2018;281(1):154–68.
77. Barbour M, Allan D, Xu H, Pei C, Chen M, Niedbala W, Fukada SY, Besnard AG, Alves-Filho JC, Tong X, Forrester JV, Liew FY, Jiang HR. IL-33 attenuates the development of experimental autoimmune uveitis. *Eur J Immunol.* 2014;44(11):3320–9.
78. Koca SS, Kara M, Deniz F, Ozgen M, Demir CF, Ilhan N, Isik A. Serum IL-33 level and IL-33 gene polymorphisms in Behçet's disease. *Rheumatol Int.* 2015;35(3):471–7.
79. Zhao B, Chen W, Jiang R, Zhang R, Wang Y, Wang L, Gordon L, Chen L. Expression profile of IL-1 family cytokines in aqueous humor and sera of patients with HLA-B27 associated anterior uveitis and idiopathic anterior uveitis. *Exp Eye Res.* 2015;138:80–6.

8. Informacje o charakterze udziału współautorów w publikacjach wraz z szacunkowym określeniem procentowego wkładu każdego z nich oraz oświadczenie o zgodzie na wykorzystanie publikacji w rozprawie doktorskiej

„Endothelin-1 Serum Concentration is Lower in Children and Adolescents with High Myopia, a Preliminary Study” autorów: Katarzyna Powierza, Beata Żelazowska-Rutkowska, Jolanta Sawicka-Powierza, Bożena Mikołuc, Beata Urban, Wojciech Zaremba, Alina Bakunowicz-Lazarczyk w J Clin Med, 2020:9,1327.

Imię i nazwisko współautora	Charakter udziału	Procentowy wkład
doktorant - lek. Katarzyna Powierza		70%
Dr n. med. Beata Żelazowska-Rutkowska	Wykonanie oznaczeń	6%
Dr hab. n. med. Jolanta Sawicka-Powierza	Analiza otrzymanych wyników	4%
Prof. dr hab. n. med. Bożena Mikołuc	Badanie dzieci pod kątem chorób reumatologicznych	4%
Dr hab. n. med. Beata Urban	Pomoc w rekrutowaniu pacjentów	3%
Student Wojciech Zaremba	Uzupełnianie danych pacjentów	2%
Dr hab. n. med. Bogdan Cylwik	Korekta ostatecznego manuskryptu	2%
Prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Lazarczyk	Ustalenie tematu badania i nadzór merytoryczny	9%

„Endothelin-1 Serum Concentration in Pediatric Chronic Idiopathic Uveitis” autorów Katarzyna Powierza, Jolanta Sawicka-Powierza, Beata Urban, Beata Żelazowska-Rutkowska, Bogdan Cylwik, Bożena Mikołuc, Olga Kowalewska, Alina Bakunowicz-Lazarczyk w Clin. Ophthal, 2021:15,157-164.

Imię i nazwisko współautora	Charakter udziału	Procentowy wkład
doktorant - lek. Katarzyna Powierza		70%
Dr hab. n. med. Jolanta Sawicka-Powierza	Autor korespondencyjny	5%
Dr hab. n. med. Beata Urban	Pomoc w rekrutowaniu pacjentów	5%
Dr n. med. Beata Żelazowska-Rutkowska	Wykonanie oznaczeń	5%
Dr hab. med. Bogdan Cylwik	Analiza otrzymanych wyników	5%
Prof. dr hab. n. med. Bożena Mikołuc	Badanie dzieci pod kątem chorób reumatologicznych	3%
Lek. Olga Kowalewska	Uzupełnianie danych pacjentów	2%
Prof. dr hab. n. med. Alina Bakunowicz-Lazarczyk	Ustalenie tematu badania i nadzór merytoryczny	5%

Oświadczam, że wszyscy współautorzy wyrazili zgodę na wykorzystanie powyższych publikacji w pracy doktorskiej lekarz Katarzyny Powierzy.

Katarzyna Powierza