

# Utjecaj omega 3 masnih kiselina na zdravlje očiju i na vid

---

Vrdoljak, Marin

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:090700>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-10-11**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Marin Vrdoljak**  
0058221926

**UTJECAJ OMEGA 3 MASNIH KISELINA NA ZDRAVLJE OČIJU I NA VID  
ZAVRŠNI RAD**

**Predmet: Kemija i biokemija hrane**

**Mentor: prof. dr. sc. Irena Landeka Jurčević**

**Zagreb, 2024.**

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Sveučilišni prijediplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za poznavanje i kontrolu sirovina i prehrambenih proizvoda  
Laboratorij za kemiju i biokemiju hrane

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

### Utjecaj omega 3 masnih kiselina na zdravlje očiju i na vid

Marin Vrdoljak, 0058221926

#### Sažetak:

Omega 3 masne kiseline pokazuju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Dvije najvažnije omega 3 masne kiseline su dokozaheksaenska (DHA) i eikozapentaenska (EPA). One se u većim koncentracijama nalaze u hrani morskog podrijetla. U ljudskom tijelu mogu se sintetizirati iz alfa-linolenske masne kiseline. DHA selektivno se nakuplja u fotoreceptorima te je jako važna strukturna komponenta membrana fotoreceptora. Dio je fosfolipida koji grade membrane te ima ulogu u poboljšanju transdukcije i regeneraciji retinala. Oko je složena struktura zadužena za osjetilo vida. Na mrežnici oka dolazi do konverzije svjetlosti u električni impuls. Građena je od velikog broja različitih stanica. Bolesti mrežnice djeluju i na krvne žile i neurone. Omega 3 masne kiseline djeluju preventivno na razvoj tih bolesti te umanjuju njihove simptome. Omega 3 masne kiseline sudjeluju u sintezi eikozanoida te djeluju kao ligandi za transkripcijske faktore. Utječu na aktivnost mnogih enzima. Inhibiraju vezanje faktora rasta vaskularnog endotela (VEGF-a) na receptore na površini membrana. Na ove načine sprječava abnormalnu neovaskularizaciju te degeneraciju neurona. Bolesti koje su opisane u ovom radu su dijabetična retinopatija, starosna makularna degeneracija i retinopatija nedonoščadi.

**Ključne riječi:** DHA, EPA, dijabetična retinopatija, starosna makularna degeneracija, retinopatija nedonoščadi

**Rad sadrži:** 29 stranica, 54 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Prehrambeno-biotehnološkoga fakulteta, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** prof. dr. sc. Irena Landeka Jurčević

**Datum obrane:** 16. rujna 2024.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
University undergraduate study Food Technology

Department of Food Quality Control  
Laboratory for Chemistry and Food Biochemistry

Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Food Technology

### The effect of omega 3 fatty acids on eye health and vision

Marin Vrdoljak, 0058221926

#### Abstract:

Omega 3 fatty acids have a positive impact on human health. Two of the most important omega 3 fatty acids are docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA). In bigger concentrations they are found only in sea food. They can be biosynthesized from alpha linolenic acid. DHA is selectively accreted to photoreceptors and it's extremely important structural component of phospholipid membranes. They have a role in making transduction more efficient and in retinal regeneration. Eye is a complex structure that's responsible for sight. Retina of the eye is composed of a number of different cells and its main function is the conversion of light to electric impulse. Diseases of the retina affect both vascular and neural tissue. Omega 3 fatty acids can prevent the onset of these diseases and ameliorate their symptoms. Omega-3 fatty acids take part in eicosanoid biosynthesis and act as ligands for transcriptional factors. They affect the activity of many enzymes and inhibit the binding of vascular endothelial growth factor (VEGF) on the receptors on the cell surface. Using these pathways omega 3 fatty acids inhibit abnormal neovascularization and neurodegeneration. Diseases described in this work are diabetic retinopathy, age-related macular degeneration, and retinopathy of prematurity.

**Keywords:** DHA, EPA, diabetic retinopathy, age-related macular degeneration, retinopathy of prematurity

**Thesis contains:** 29 pages, 54 references

**Original in:** Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

**Mentor:** Irena Landeka Jurčević, PhD, Full Professor

**Thesis defended:** September 16, 2024.

## Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	2
2.1 .OMEGA 3 MASNE KISELINE .....	2
2.2 .ANATOMIJA OKA .....	6
2.3 .METABOLIČKI I OKOLIŠNI AKTIVATORI.....	11
2.3.1 ISHEMIJA / UPALA.....	12
2.3.2 IZLOŽENOST SVJETLU .....	13
2.3.3 REDOKS RAVNOTEŽA.....	14
2.3.4 INFLAMACIJA .....	15
2.3.5 SIGNALNI PUTEVI I MOLEKULE KOJE SUDJELUJU U SIGNALIZACIJI.....	15
2.3.6. STARENJE.....	16
2.4. UTJECAJ LCPUFA U KRVOŽILNOM SUSTAVU MREŽNICE .....	17
2.5. BOLESTI MREŽNICE .....	19
2.5.1 DIJABETIČKA RETINOPATIJA (DR).....	19
2.5.2 STAROSNA MAKULARNA DEGENERACIJA (AMD).....	21
2.5.3. RETINOPATIJA NEDONOŠČADI ILI PREMATORNA RETINOPATIJA (ROP) .....	22
3. ZAKLJUČCI.....	24
4. POPIS LITERATURE .....	25

## 1. UVOD

Masne kiseline dio su svakodnevne prehrane. Dije se u nekoliko skupina.  $\omega$ -3 masne kiseline jedna su skupina masnih kiselina s izraženim pozitivnim djelovanjem na ljudski organizam. One pozitivno utječu na bolesti brojnih tkiva i organa u organizmu. Oko je složeni organ u ljudskom tijelu te je zaduženo za osjetilo vida. Pokazalo se da se  $\omega$ -3 masne kiseline selektivno zadržavaju u mrežnici oka te da su sastavni dio fotoreceptora, stanica zaduženih za apsorpciju svjetlosti i induciranje kaskade reakcija kojima se generira električni impuls koji odlazi do dijelova mozga zaduženih za vid.  $\omega$ -3 masne kiseline djeluju na brojne molekule i procese koji sudjeluju u razvoju bolesti oka. Utječu na neovaskularizaciju, povećanje permeabilnosti krvnih žila, nepravilnosti u regulaciji imunološkog odgovora te promjene u staničnoj redoks ravnoteži. One su prekursori molekula koje imaju ulogu u regulaciji imuniteta te utječu na aktivnost enzima kojima se te molekule sintetiziraju. Također utječu na signalne kaskade kojima se provodi komunikacija unutar stanice te između stanica. Imaju ulogu u regulaciji transkripcije gena tako što djeluju na transkripcijske faktore uključene u biosintezi molekula s neurodegenerativnim i neovaskularnim djelovanjem. Koncentracija i sastav  $\omega$ -3 masnih kiselina u tijelu ovisi o prehrani.  $\alpha$ -linolenska masna kiselina je prisutna u biljnim uljima i mastima. Ona je esencijalna masna kiselina te se iz nje mogu sintetizirati  $\omega$ -3 dugolančane, višestrukonezasićene masne kiseline ( $\omega$ -3 LCPUFA) EPA (eikozapentaenska) i DHA (dokozaheksaenska). Unatoč toj mogućnosti sposobnost organizma za sintezu DHA i EPA ne zadovoljava dnevne potrebe organizma te ih je potrebno unositi prehranom (Carré i sur., 2023). DHA i EPA u većim su količinama zastupljene u vrlo malom broju namirnica morskog podrijetla. Osim hranom, mogu se unijeti i suplementacijom u obliku kapsula ili ulja. Većina ljudi ne unosi  $\omega$ -LCPUFA u dovoljnoj količini da bi se zadovoljile dnevne potrebe. Promjena prehrambenih navika može pozitivno utjecati te prevenirati nastanak bolesti oka.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1 OMEGA 3 MASNE KISELINE

Masne kiseline su linearni ugljikovodični lanci koje sadrže terminalnu karboksilnu skupinu i paran broj ugljikovih atoma. Postoji više od 1000 vrsta masnih kiselina, ali za ljudski organizam značajno je njih 25 do 50. Također, masne kiseline su najvažniji dio molekule triacilglicerola jer se na njima odvijaju sve kemijske reakcije. Masne kiseline mogu biti zasićene i nezasićene. Kod zasićenih masnih kiselina sve veze između ugljikovih atoma su jednostruke. Nezasićene masne kiseline imaju jednu ili više dvostrukih veza. Nezasićene masne kiseline se dalje dijele na jednostruko nezasićene (monounsaturated, MUFA) ili višestruko nezasićene (polyunsaturated, PUFA) masne kiseline. Postojanje dvostruke veze omogućava stvaranje optičkih izomera masnih kiselina. U prirodi je većina masti u obliku cis izomera. Trans izomeri rijetki su u prirodi i obično nastaju tijekom tehnološkog procesa proizvodnje i modifikacije ulja i masti. Masne kiseline mogu se imenovati na više načina te se svaka masna kiselina može prikazati na tri načina: sistemsko i trivijalno ime te strukturni simbol. Sistemsko ime prikazuje građu masne kiseline po pravilima kemijske nomenklature i najčešće nije u upotrebi. U praksi se koriste trivijalno ime i strukturni broj. Strukturni broj sastoji se od 2 broja. Prvi nam govori koliko masna kiselina ima ugljikovih atoma, a drugi koliko ima dvostrukih veza. Ako masna kiselina sadrži dvostruke veze navodi se i na kojem se ugljikovom atomu od metilnog kraja nalazi prva dvostruka veza. Primjerice oznaka za dokosaheksaensku masnu kiselinu je (22:6,  $\omega$ -3). To znači da ima 22 ugljikova atoma te 6 dvostrukih veza i da se prva dvostruka veza nalazi na trećem ugljikovom atomu od metilnog kraja. Masne kiseline se također mogu podijeliti na esencijalne i nesencijalne masne kiseline. Nesencijalne masne kiseline tijelo može samo sintetizirati. U tu skupinu spadaju zasićene, primjerice palmitinska (C16:0) i stearinska masna kiselina (C18:0), te jednostruko nezasićene masne kiseline, primjerice oleinska masna kiselina (C18:1,  $\omega$ -9). Esencijalne masne kiseline tijelo ne može samo sintetizirati. Uzrok tomu je nedostatak enzima  $\Delta$ 15- i  $\Delta$ 12 desaturaze. Esencijalne masne kiseline mogu biti  $\omega$ -3 ili  $\omega$ -6. Značajnije  $\omega$ -3 masne kiseline su  $\alpha$ -linolenska, eikosapentaenska (EPA) i dokosaheksaenska (DHA) masna kiselina. Značajnije  $\omega$ -6 masne kiseline su linolna (LA),  $\gamma$ -linolenska (GLA) te arahidonska (AA) masna kiselina (Saini i Keum, 2018). Istraživanja su pokazala da  $\omega$ -3 imaju pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. One reduciraju upalu, pomažu u prevenciji srčanih bolesti, raznih vrsta tumora i artritisa. Koncentriraju se u mozgu i mrežnici te pomažu u razvoju kognitivnih funkcija i unapređuju razvoj mozga (Shahidi i Ambigaipalan, 2018). U grupi  $\omega$ -6 nalazi se linolna masna kiselina koja je esencijalna, ali prehrana dominantna  $\omega$ -6 masnim kiselinama može imati negativni utjecaj na zdravlje jer prevelika količina  $\omega$ -6 potiče upalne procese. Stoga je potrebno paziti

na omjer  $\omega$ -6 naprema  $\omega$ -3 masnim kiselinama koji bi trebao biti od 2:1 do 4:1. U modernoj prehrani ljudi u zapadnom svijetu taj omjer se kreće više prema 15:1 do 20:1 (Simopoulos, 2002).

Dugolančane višestrukonezasićene masne kiseline (LCPUFAs) su dobro definirana podskupina višestruko nezasićenih masnih kiselina. Sadrže lanac duljine od 18 do 24 ugljikova atoma i najmanje dvije dvostruke veze. Mogu se dobiti na dva načina. Prvi način je da se sintetiziraju iz esencijalnih masnih kiselina.  $\alpha$ -linolenska masna kiselina je prekursor za EPA i DHA, a linolna za AA. Drugi način je da se te masne kiseline u tijelo unesu prehranom, bilo iz hrane bogate ovim masnim kiselinama ili suplementacijom. Važno je za naglasiti da su sposobnosti ljudskog organizma da sintetiziraju LCPUFA i esencijalne masne kiseline male te da se na taj način ne mogu ostvariti potrebne dnevne količine te da smo ovisni o unosu ovih komponenti iz hrane (Saini i Keum, 2018).

LCPUFA se u tijelu ne nalaze u slobodnom obliku nego u esterificirane u molekulama fosfolipida ili triacilglicerola na položaju 2. U ljudskoj mrežnici nalaze se primarno kao dijelovi fosfolipida koji grade stanične membrane. Najznačajniji fosfolipidi su fosfatidil kolin (PC), fosfatidil etanolamid (PEA), fosfatidil serin (PS) i fosfatidil inozitol (PI). Fosfatidil kolin sačinjava 40-50 % od svih fosfolipida unutar mrežnice te se primarno nalazi u sloju membrane okrenutom prema ekstracelularnom matriksu. Fosfatidil etanolamin i fosfatidil serin sačinjavaju 30-35 % te 5-10 % fosfolipida u mrežnici te se primarno nalaze unutar sloja membrane okrenutog prema citoplazmi. Fosfatidil inozitol sačinjava 3-6 % fosfolipida unutar mrežnice te su nalazi u dijelovima membrane koji sudjeluju u signalnim kaskadama (SanGiovanni i Chew, 2005).

Najveće koncentracije DHA u tijelu nalaze se u vanjskim segmentima fotoreceptora, odnosno u njihovim membranama. Također je, u velikim koncentracijama, možemo pronaći u glija stanicama te krvožilnom sustavu unutar mrežnice (retinalna mreža). Od svih vrsta fosfolipida unutar retine, fosfatidil etanolamin i fosfatidil serin sadržavaju najveću količinu DHA. EPA je druga značajna  $\omega$ -3 LCPUFA. Ne nakuplja se u tkivu u tolikoj količini kao DHA. Razlog tomu je što se EPA vrlo brzo iskoristi ili za sintezu DHA ili za sintezu eikosanoida. AA je najvažnija  $\omega$ -6 LCPUFA u cijelom tijelu pa tako i u mrežnici. Nalazi se u najvećoj koncentraciji unutar fosfatidil kolina i fosfatidil etanolamina u mrežnici i mozgu (Kidd, 2007).

LCPUFA unutar mrežnice imaju nekoliko važnih uloga. Važne su strukturne komponente fosfolipida koji grade membrane stanica unutar mrežnice. Ligandi su za transkripcijske faktore koji reguliraju ekspresiju gena te utječu na njihovu aktivnost i koncentraciju unutar jezgre. Transkripcijski faktori na koje utječu su PPAR, RXR, NF $\kappa$ B te SREBP. U nekim slučajevima



metaboliti LCPUFA također mogu biti ligandi za transkripcijske faktore. LCPUFA su i supstrati za sintezu eikozanoida i endokanabinoida (SanGiovanni i Chew, 2005).

Nakon što se EFA unesu hranom, dolazi do elongacije i desaturacije unutar endoplazmatskog retikuluma hepatocita jetre. Hepatociti su specijalizirane stanice tkiva jetre i čine 70-80 % stanica unutar jetre. Obzirom da se obadviije vrste masnih kiselina natječu za iste enzime, važno je paziti na sastav masnih kiselina u prehrani jer će o tome ovisiti i konačni omjer sintetiziranih  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6 LCPUFA. U hrani se EFA i LCPUFA nalaze esterificirane u molekuli triacilglicerola. DHA je esterificirana na položaju 2, a EPA na položaju 1 ili 3 (češće 3). Kada triacilgliceroli dođu u tanko crijevo, lipaze koje izlučuje jetra hidroliziraju masne kiseline koje se nalaze na položaju 1 i 3. Time nastaju slobodne masne kiseline i 2-monoacilgliceroli. Nastale spojeve zatim apsorbiraju enterociti koji tvore epitel tankog crijeva i ponovno ih esterificiraju u triacilglicerole i fosfolipide koji se zatim ugrađuju u hilomikrone i VLDL te izlučuju u limfni sustav. Hilomikroni i VLDL putuju limfnim sustavom iz kojeg prelaze u krvotok i dolaze do jetre. ALA ulazi u hepatocite pomoću receptora na površni stanice i aktivira se vezanjem na CoA. ALA-CoA ulazi u glatki endoplazmatski retikulum gdje se elongira i desaturira do DHA-CoA, koji odlazi u hrapavi endoplazmatski retikulum i veže se u kompleks s apoproteinima. Oni se unutar vezikula prenose do Golgijevih tijela u kojem se povezuju u lipoproteine i izlučuju u krvotok. DHA sintetiziran u tijelu se tijekom tog procesa miješa s DHA iz prehrane te se zajedno prenose do koriokapilarisa. DHA se zatim selektivno nakuplja i zadržava u membranama vanjskih segmenata fosfolipida. DHA se prenosi preko pigmentnog epitela mrežnice i interfotoreceptorskog matiksa do fotoreceptora. Interfotoreceptorski matriks je prostor između pigmentnog epitela mrežnice i vanjske limitirajuće membrane. Obzirom na hidrofobnu prirodu masnih kiselina, njihov transport zahtijeva specijalizirane transportne sustave, transportne proteine i receptore. LCPUFA ulaze u fotoreceptor pomoću membranskog transportnog proteina te se odvajaju od lipoproteina djelovanjem lipoprotein lipaze. U stanicu ulaze u unutrašnjem segmentu, precizno u dijelu bogatom glatkim endoplazmatskim retikulumom koji se nalazi pored cilija koje povezuju vanjski i unutarnji segment. DHA se aktivira pomoću CoA i esterificira na fosfatidnu kiselinu. Nastali fosfolipidi ugrađuju se u membranske diskove i zadržavaju u blizini molekula rodopsina i fotopsina. Unutar fotoreceptora djeluju efikasni mehanizmi kojima se obnavlja oksidirana DHA i to je osobina specifična za fotoreceptore. Diskovi s vremenom migriraju prema vrhovima vanjskih segmenata te se odbacuju. Stanice pigmentnog epitela mrežnice fagocitoziraju odbačene diskove. Nakon što se fagosomi unutar pigmentnog epitela mrežnice razgrade, unutar stanica zaostaju velike kapljice ulja bogate s DHA, koje se transportiraju natrag do fotoreceptora za ponovnu upotrebu. Sinteza DHA moguća je i u samim fotoreceptorima, ali je ta mogućnost

ograničena. Retinalni pigmentni epitel, endotelne stanice koriokapilarisa te astrociti imaju također mogućnost sinteze DHA. Unatoč tome, jetra je glavno mjesto u tijelu za sintezu LCPUFA. U endotelnim stanicama žilnice, koncentracija EPA je 5 puta veća od koncentracije u neuronima mrežnice. Koncentracija AA u vanjskim segmentima štapića je 4 do 16 puta manja nego u pigmentnom epitelu mrežnice. Za razliku od toga, koncentracija DHA je 3 do 5 puta veća u vanjskim segmentima štapića nego u pigmentnom epitelu mrežnice. Ovo je dokaz da dolazi do selektivnog nakupljanja DHA u vanjskim segmentima fotoreceptora (Saini i Keum, 2018).

Prosječan dnevni unos  $\omega$ -3 masnih kiselina u Zapadnom svijetu je 1 do 2 g/dan. Od toga većina se odnosi na ALA. EPA i DHA se u prosjeku unose od 0,1 do 0,2 g/dan. Glavni izvori ALA su biljna ulja, primarno ulje uljane repice, sojino ulje ili laneno ulje. Izvori EPA i DHA su meso masnih riba. Dio DHA unosi se i preko jaja.  $\omega$ -3 masne kiseline mogu se unositi i suplementacijom, u obliku ribljeg ulja ili kapsula. Glavni izvori LA su suncokretovo ulje, sojino ulje i ulje kukuruznih klica. Unos  $\omega$ -6 masnih kiselina procijenjen je na 10 do 20 g/dan. Ovaj omjer  $\omega$ -6/ $\omega$ -3 je puno veći od preporučenog. Unos AA je procijenjen na 0,1 g/dan. EPA i DHA se u velikim količinama nalaze samo u maloj količini namirnica koje se ne konzumiraju dovoljno često u prosječnoj prehrani u razvijenom svijetu, ove masne kiseline ne unose se u preporučenim dnevnim količinama te stoga imaju potencijal kod modificiranja prehrane u cilju preventivnog djelovanja na bolesti oka. Preporučeni dnevni unos  $\omega$ -3 LCPUFA je od 250 do 500 mg/dan, ali istraživanja su pokazala da se unos do 3 g/dan nema značajnijih negativnih posljedica. Neka istraživanja pokazala su da može doći do povećanog rizika od krvarenja kod unosa  $\omega$ -3 LCPUFA u količinama većim od 3 g/dan. Kod unosa manjeg od 3 g/dan taj rizik se nije pokazao značajnim (Kris-Etherton i sur., 2000).

Fosfolipidi mrežnice specifični su po tome što su obje masne kiseline u njihovoj strukturi višestrukonezasićene. Struktura tih masnih kiselina uzrokuje promjene u karakteristikama membrane. Mijenja se permeabilnost, fluidnost i debljina membrane te aktivnost proteina vezanih na membranu. Stereokemijska struktura DHA omogućava efikasniju konformacijsku promjenu opsina nakon što 11-cis-retinal apsorbira svjetlost. Veliki broj dvostrukih veza i ugljikovih atoma onemogućava gusto pakiranje strukturnih komponenti membrane. Membrana je fluidnija, a to omogućava brži odgovor na svjetlosni podražaj. Pozicija prve dvostruke veze na trećem ugljikovom atomu kod DHA daje dodatnu prednost u odnosu na identičnu masnu kiselinu koja ima prvu dvostruku vezu na šestom ugljikovom atomu (Chen i sur., 1996).

Masne kiseline koje grade membrane su primarni izvor supstrata za sintezu signalnih molekula koje su aktivne u autokrinom i parakrinom signaliziranju. Signalne molekule sudjeluju u kontroli ekspresije gena. Promjena u sastavu i koncentraciji LCPUFA u tkivima oka utječe

na promjenu strukture i funkcije oka. Nedostatak DHA povezan je sa strukturnim i funkcionalnim nepravilnostima. DHA također sudjeluje u fototransdukciji. Sastav masnih kiselina u membranama vanjskih segmenata utječe na efikasnost međustanične signalizacije. Membrane bogate s DHA pokazuju efikasniju konformacijsku promjenu opsina te veću aktivnost cGMP fosfodiesteraze. DHA također ima ulogu u regeneraciji rodopsina, odnosno pretvorbi all-trans-retinala natrag u 11-cis-retinal (Chen i sur., 1996).

DHA utječe na ekspresiju gena tako što djeluje kao ligand za transkripcijske faktore koji utječu na ekspresiju gena. DHA je također značajno zastupljena u PS, koji djeluje kao aktivator nekih proteinskih kinaza koje sudjeluju u ekspresiji gena (Kim i sur., 2010).

Pokazalo se da DHA povećava i ekspresiju opsina. U in vitro modelima na fotoreceptorima štakora, stanice koje su bile suplementarne s DHA živjele su duže od stanica koje nisu. Također, broj stanica u kojima je uočen opsin bio je veći kod onih koje su bile suplementarne s DHA (Politi i sur., 2001).

## **2.2 ANATOMIJA OKA**

Oko je složeni organ koji je odgovoran za vid. On interpretira svjetlost i prenosi poruke do mozga. Glavna funkcija oka je vizualizacija svijeta oko nas prijenosom svjetlosnih zraka iz okoline i njihovim fokusiranjem na mrežnicu.

Oko se sastoji od vanjskih, središnjih i unutarnjih dijelova. Vanjski dijelovi oka su rožnica, bjeloočnica (sklera) i konjunktiva. Rožnica je prozirni, kupolasti dio na prednjoj strani oka i odgovorna je za refrakciju svjetlosnih zraka kako bi se usmjerile prema leći. Bjeloočnica (sklera) je bijela, tvrda vanjska ovojnica koja štiti unutarnje dijelove oka i daje mu oblik. Konjunktiva je tanka, prozirna membrana koja prekriva prednju površinu oka (osim rožnice) i unutarnju površinu kapaka, štiteći oko od infekcija i stranih tijela. Središnji dijelovi oka su: šarenica (iris), zjenica i leća. Šarenica je obojeni dio oka koji okružuje zjenicu. Ona kontrolira količinu svjetlosti koja ulazi u oko proširivanjem ili sužavanjem zjenice. Zjenica je crni otvor u sredini šarenice kroz koji svjetlost ulazi u oko. Veličina zjenice prilagođava se svjetlosnim uvjetima – širi se u slabom svjetlu i sužava u jakom svjetlu. Leća je prozirna struktura smještena iza zjenice, odgovorna za fokusiranje svjetlosnih zraka na mrežnicu. Leća mijenja oblik kako bi se prilagodila gledanju predmeta na različitim udaljenostima, proces poznat kao akomodacija oka. Unutarnji dijelovi oka su: staklovina (vitreous body), mrežnica (retina) te žuta pjega (makula). Staklovina je prozirna, gelasta supstanca koja ispunjava većinu unutrašnjosti oka. Staklovina održava oblik oka i pomaže u prijenosu svjetlosnih zraka prema mrežnici. Mrežnica (retina) je tanki sloj osjetljiv na svjetlost. Nalazi se na stražnjem dijelu oka koji pretvara svjetlosne signale u električne impulse. Mrežnica sadrži fotoreceptore: štapiće i

čunjiće. Žuta pjega (makula) je mala središnja regija mrežnice odgovorna za oštar, detaljan centralni vid. U središtu žute pjege nalazi se fovea, područje s najvećom koncentracijom čunjića, koje omogućuje najbolju vidnu oštrinu. Iz oka izlazi optički živac (nervus opticus). To je snop živčanih vlakana koji prenosi električne signale iz mrežnice do mozga, gdje se ti signali obrađuju kao vizualne informacije Long i Koyfman, 2018).

Na mrežnici nastaje fokusirana, dvodimenzionalna slika. Slika se djelomično procesira unutar same mrežnice te se energija svjetlosti pretvara u živčane impulse koji se putem optičkog živca šalju u dijelove korteksa mozga zaduženih za percepciju vida.

Mrežnica je dio oka koji je jako podložan brojnim bolestima. Sastoji se od nekoliko slojeva različitih živčanih stanica koji su međusobno povezani sinapsama. Mrežnicu podržava retinalni pigmentni epitel. Stanice zadužene za detektiranje svjetlosti i pretvaranje svjetlosti u živčani signal su štapići i čunjići. Štapići funkcioniraju u prigušenom svjetlu te su zaduženi za vid u mraku i periferni vid. Čunjići funkcioniraju u dobro osvijetljenim uvjetima te omogućavaju percepciju boje te oštri vid. Kada svjetlost dođe na mrežnicu potiče se kaskada kemijskih reakcija koji aktiviraju živčane impulse. Mrežnica je dio tijela s najvećom kontinuiranom potrebom za energijom koja je veća čak i od potreba mozga. Razlog tomu je potreba za konstantnom obnovom vanjskih segmenata fotoreceptora (Wong-Riley, 2010). Mrežnica kralježnjaka je invertirana. To znači da se fotoreceptori nalaze na kraju mrežnice te svjetlost mora proći kroz slojeve živčanih stanica i krvnih kapilara prije nego li dođe do štapića i čunjića. Ganglijske stanice, čiji aksoni tvore optički živac, nalaze se na početku retine. Optički živac stoga mora proći kroz retinu da bi došao do mozga te stvara slijepu točku. To je dio mrežnice koji ne sadrži štapiće i čunjiće te nema mogućnost procesiranja svjetlosnih signala. Fovea centralis je dio retine bogat čunjićima te je odgovoran za najveću oštrinu vida. Ispred nje se nalazi vrlo malo živčanih stanica dok krvne žile potpuno izostaju.

Retina kralježnjaka građena je od 10 različitih slojeva. Najbliže staklovini nalazi se unutarnja ograničavajuća membrana. To je bazalna membrana koja razdvaja mrežnicu od staklastog tijela. Iza nje slijedi sloj živčanih vlakana, odnosno aksoni ganglijskih stanica koji tvore očni živac. Tanki sloj Müllerovih glija postoji između ovog sloja i unutarnje ograničavajuće membrane. Iza toga slijedi sloj ganglijskih stanica, koji sadrži jezgre ganglijskih stanica i neke amakrine stanice, te unutrašnji nuklearni sloj, koji sadrži stanična tijela bipolarnih, horizontalnih i amakrinih stanica. Između ova dva sloja nalazi se unutarnji pleksiformni sloj. To je sloj s vrlo malim brojem stanica. U njemu se nalaze sinapse između aksona bipolarnih stanica i dendrita ganglijskih i amakrinih stanica. Tako se ispod unutrašnjeg nuklearnog sloja nalazi sloj vanjski pleksiformni sloj. On sadrži sinapse između dendrita bipolarnih i horizontalnih stanica te projekcija štapića i čunjića. Zatim slijede vanjski nuklearni sloj koji

sadrži stanična tijela štapića i čunjića te vanjska ograničavajuća membrana koja odvaja unutarnje segmente fotoreceptora od njihovih staničnih jezgara. Sloj unutarnjih i vanjskih segmenata sadrži unutarnji i vanjski segmenti štapića i čunjića. Unutrašnji segmenti sadrže organele potrebne za normalno funkcioniranje stanice te njen metabolizam, dok vanjski segmenti sadrže visoko specijalizirani aparat za detekciju svjetlosti. Na samom kraju mrežnice nalazi se retinalni pigmentni epitel (*retinal pigment epithelium*, RPE). To je sloj koji se sastoji od jednog reda kuboidalnih epitelnih stanica. Ovaj sloj je najbliži žilnici te dovodi hranjive tvari te predstavlja podršku neuronima mrežnice. Crni pigment melanin u pigmentnom sloju sprječava refleksiju svjetlosti što je izuzetno važno za jasnu sliku. U cijelosti, mrežnica sadrži tri sloja živčanih stanica te tri sloja sinapsi. Svaki dio mrežnice ima različite nutritivne potrebe (Irsch i Guyton, 2009).

Apsorpciju energije svjetlosti u vanjskom segmentu fotoreceptora omogućuju fotopigmenti. To su fotoreceptori povezani s G-proteinima. U štapićima se nalazi rodopsin, a u čunjićima različiti oblici fotopsina. Fotopigmenti su zapravo protein opsin na koji je vezana molekula osjetljiva na svjetlost, najčešće retinoid. Opsini se sastoje od 7 transmembranskih domena koje tvore vezno mjesto za retinoid. Ljudi imaju ukupno 9 različitih opsina. Molekula vezana na opsin je 11-cis-retinal. Međutim, 11-cis-retinal zapravo samo blokira vezno mjesto na opsinu te ne aktivira opsin. Nakon što fotopigment apsorbira energiju svjetlosti, 11-cis-retinal se izomerizira u all-trans-retinal, koji se veže na vezno mjesto i uzrokuje strukturnu promjenu opsina. Strukturna promjena izaziva povećan afinitet za vezanje na regulatorni protein transducin (vrsta G-proteina). Nakon vezanja na rodopsin u štapićima ili fotopsin u čunjićima,  $\alpha$ -podjedinica transducina mijenja molekulu GDP-a molekulom GTP-a te se aktivira.  $\alpha$ -podjedinica disocira se od  $\beta$  i  $\gamma$  podjedinice te se veže na cGMP fosfodiesterazu (PDE).  $\alpha$ -podjedinica transducina onemogućuje inhibitornim  $\gamma$  podjedinicama fosfodiesteraze da blokiraju aktivna mjesta na  $\alpha$  i  $\beta$  podjedinici. cGMP fosfodiesteraza se ovim mehanizmom aktivira te izaziva hidrolizu cGMP-a u 5'-GMP. Smanjenje koncentracija cGMP-a uzrokuje zatvaranje  $\text{Na}^+$  ionskih kanala, što onemogućuje dotok pozitivnih iona te se stanica hiperpolarizira. Dolazi do inhibicije lučenja neurotransmitera glutamata. Ovim postupkom započinje fototransdukcija. Aktivacija jedne molekule rodopsina dovodi do snažne reakcije jer jedna molekula rodopsina može aktivirati nekoliko stotina transducina. Transducin aktivira cGMP fosfodiesterazu koja može hidrolizirati nekoliko tisuća molekula cGMP-a u sekundi. Vanjski segment fotoreceptora ne regenerira all-trans-retinal natrag u cis oblik. All-trans-retinal se reducira u all-trans-retinol, koji se transportira u retinalni pigmentni epitel, gdje se retinol izomerizira i oksidira natrag u 11-cis retinal te potom vraća natrag u fotoreceptore. Ovaj mehanizam štiti fotoreceptore od fotooksidacije. Prijenos signala s fotoreceptora na bipolarne

stanice te s bipolarnih stanica na ganglijske stanice nije direktan. Razlog tomu je što mrežnica sadrži oko 150 milijuna fotoreceptora dok se optički živac sastoji od svega milijun živčanih vlakana odnosno aksona ganglijskih stanica. Zato mora doći do miješanja i preklapanja signala. Stoga horizontalne i amakrine stanice inhibiraju signal kako bi umanjili ukupnu sumu signala koja dođe do mozga. Postoje tri inhibitorna mehanizma koji omogućavaju brzo vraćanje aktiviranih fotoreceptora u početno stanje. Prvi mehanizam je preko rodopsin kinaze koja fosforilira citosolni kraj molekule rodopsina na nekoliko serina te se na sad fosforilirani kraj veže inhibitorni protein arrestin koji onemogućava vezanje transducina na rodopsin. Drugi mehanizam je aktivacijom regulatora G protein signalizacije (RGS enzima) koji hidrolizira vezani GTP u GDP. Da bi transducin bio aktivan, na sebi mora imati vezanu molekulu GTP-a. Treći mehanizam je putem smanjenja dotoka  $\text{Ca}^{2+}$  iona. Smanjenjem koncentracije cGMP-a dolazi do zatvaranja  $\text{Ca}^{2+}$  kanala osjetljivih na cGMP. To aktivira proteine osjetljive na  $\text{Ca}^{2+}$  koji aktiviraju gvanilat ciklazu koja sintetizira cGMP te ponovno ostvara  $\text{Ca}^{2+}$  kanale i depolarizira stanicu. U mrežnici se ukupno nalazi 7 milijuna čunjića te između 75 i 150 milijuna štapića. Oni nisu ravnomjerno raspoređeni po mrežnici. Točno nasuprot zjenici nalazi se žuta pjega (makula) koja je izgrađena samo od čunjića. Što se više udaljavamo od žute pjege, čunjića ima sve manje, a štapića sve više. Vanjski segmenti čunjića su u obliku čunja po čemu su i dobili ime. Zaduženi su za razlikovanje boja te oštri vid. Čunjići također brže uočavaju nagle promjene i pokrete jer im je brzina odgovora na podražaj veća nego kod štapića. Reagiraju na svjetlost različitih valnih duljina. U mrežnici oka postoje tri vrste čunjića koje su odgovorne za percepciju boja. To omogućuju različite vrste opsina (Shichida i Matsuyama, 2009). Svaka vrsta čunjića je osjetljiva na različite valne duljine svjetlosti, što omogućuje razlikovanje boja. S-čunjići (kratkovalni čunjići) najosjetljiviji na plavu svjetlost, s valnim duljinama između otprilike 420 i 480 nm. Oni igraju ključnu ulogu u percepciji plave boje i pomažu u razlikovanju nijansi plave. S-čunjići najmanje su zastupljena vrsta čunjića (oko 10 %) te su najbrojniji u perifernim dijelovima mrežnice. M-čunjići (srednjevalni čunjići) najosjetljiviji su na zelenu svjetlost, s valnim duljinama između otprilike 530 i 550 nm. Oni omogućuju percepciju zelene boje i pomažu u razlikovanju nijansi zelene. M-čunjići koncentrirani su u središnjem dijelu mrežnice, osobito u foveji, što omogućuje oštru vidljivost boja u središnjem vidnom polju. Sačinjavaju oko 30 % čunjića mrežnice. L-čunjići (dugovalni čunjići) najosjetljiviji su na crvenu svjetlost, s valnim duljinama između otprilike 560 i 620 nm. Oni omogućuju percepciju crvene boje i pomažu u razlikovanju nijansi crvene. L-čunjići su također prisutni u velikim količinama u foveji, što doprinosi visokom kontrastu i detaljnosti boja u središnjem vidnom polju. Najzastupljenija su vrsta čunjića te čine oko 60 % čunjića mrežnice. Zbog postojanja tri vrste čunjića ljudi imaju trikromatski vid (Szel i Cafffi, 1996). Svi tipovi čunjića zajedno omogućuju percepciju širokog spektra boja. Mozak uspoređuje informacije iz

različitih vrsta čunjića kako bi stvorio dojam boje. Svaka vrsta čunjića reagira na različite valne duljine svjetlosti, a kombinacija njihovih signala omogućuje nam da vidimo i razlikujemo mnoge različite boje u našem okruženju. Primjerice, žutu boju vidimo kada su L-čunjići podraženi malo više od M-čunjića. Čunjići stvaraju sinapse sa bipolarnim stanicama.

Štapići su fotoreceptorske stanice smještene u mrežnici oka, koje su odgovorne za vid u slabom svjetlu (noćni vid). Štapići su oko 100 puta osjetljiviji na svjetlosni podražaj od čunjića. Štapići su malu duži i tanji od čunjića, ali imaju istu osnovnu strukturu. Štapići su vrlo osjetljivi na svjetlost, ali ne razlikuju boje, zbog čega omogućuju crno-bijeli vid. Ove stanice su ključne za periferni vid i omogućuju nam da vidimo obrise i pokrete u uvjetima slabog osvjetljenja. Štapići su najbrojniji u vanjskim dijelovima mrežnice i manje su koncentrirani u središnjem dijelu, gdje su dominantni čunjići. Štapići stvaraju sinapse sa bipolarnim ili horizontalnim stanicama (Lamb i Curtin, 2022).

Pigmentni epitel mrežnice ili retinalni pigmentni epitel (RPE) sastoji se od jednog sloja gusto zbijenih stanica heksagonalnog oblika. Čvrsto su priljubljene uz žilnicu na jednoj strani te mrežnicu na drugoj. Ispunjavaju nekoliko važnih funkcija. Unutar RPE-a nalaze se gusto pakirane granule pigmenta melanina. RPE apsorbira svjetlost te onemogućava nekontroliranu refleksiju svjetlosti unutar oka te sprječava smetnje u nastajanju jasne slike. Time također umanjuje foto-oksidacijski stres koji djeluje na mrežnicu. On sačinjava barijeru između krvotoka i fotoreceptora te sudjeluje u transportu nutrijenata i metabolita između njih. Fotoreceptori se ne dijele, nego se membrane vanjskih segmenata gibaju prema kraju stanice s koje se otpuštaju te ih stanice pigmentnog epitela mrežnice fagocitiraju. Na taj način se i  $\omega$ -3 masne kiseline mogu ponovno vratiti u fotoreceptore za ponovnu upotrebu. Osim toga, retinalni pigmentni epitel zadužen je i za regeneraciju 11-cis-retinala (Irsch i Guyton, 2009).

Očna arterija opskrbljuje mrežnicu krvlju bogatom kisikom pomoću dvije vaskularne mreže. Koroidalna mreža (žilnica) opskrbljuje vanjske dijelove mrežnice, dok retinalna mreža opskrbljuje unutarnje dijelove mrežnice. Žilnica dovodi otprilike 75 % nutrijenata dok retinalna mreža doprinosi oko 25 %. Žilnica je sloj krvnih žila smješten između bjeloočnice i mrežnice. Sastoji se od velikog broja malih krvnih žila koje opskrbljuju mrežnicu krvlju. Glavna uloga mu je dostava kisika i hranjivih tvari do vanjskih dijelova oka. Sastoji se od nekoliko slojeva koji imaju različite funkcije i karakteristike. Sloj najbliži retinalnom pigmentnom epitelu je Bruchova membrana. Služi kao barijera između koroida i pigmentnog epitela mrežnice. Bruchova membrana je važna za transport hranjivih tvari i otpadnih tvari između žilnice i mrežnice. Također, pomaže u održavanju integriteta žilnice i mrežnice. Ispod Bruchove membrane nalazi se koriokapilaris. To je sloj sitnih krvnih kapilara, koji je ključan za opskrbu vanjskih slojeva mrežnice, posebno fotoreceptora, hranjivim tvarima i kisikom. Kapilare su raspoređene u

obliku mreže koja omogućava učinkovitu distribuciju krvi. Zatim slijede Sattlerov sloj te Hallerov sloj. To su slojevi krvnih žila srednjeg i većeg promjera. Oni dovode krv koja se onda pomoću kapilara u koriokapilarisu ravnomjerno raspoređuje u sve dijelove mrežnice. U žilnici se, kao i u pigmentiranom epitelu mrežnice, nalazi pigment melanin koji sprječava nekontroliranu refleksiju svjetlosti unutar oka što bi izazvalo smetnje prilikom stvaranja jasne slike. Žilnica je najčešće mjesto za metastaze u oku zbog svoje opsežne krvne opskrbe (Irsch i Guyton, 2009).

Postoje brojne bolesti koje utječu na mrežnicu. One mogu biti naslijede ili se mogu razviti tijekom života. Neke od najčešćih te najutjecajnijih na život ljudi su: starosna makularna degeneracija (*age-related macular degeneration*, AMD), dijabetička retinopatija (*diabetic retinopathy*, DR), retinopatija nedonoščadi ili prematura retinopatija (*retinopathy of prematurity*, ROP) (SanGiovanni i Chew, 2005).

### **2.3 METABOLIČKI I OKOLIŠNI AKTIVATORI**

Ključni faktori i procesi koji utječu na mrežnicu su: ishemija, izloženost svjetlu, oksidacijski stres, apoptoza, upalni procesi, molekule koje podražuju neurone i procesi povezani sa starenjem. Oni djeluju kao bioaktivatori molekula koje sudjeluju u abnormalnoj neovaskularizaciji, pretjeranoj permeabilnosti krvnih žila, disfunkciji regulacije imunološkog sustava, poremećaju redoks ravnoteže te degeneraciji živčanih stanica i stanica retinalnog pigmentnog epitela. Uz aktivaciju i sintezu molekula koje sudjeluju u razvoju bolesti oka, ovi procesi i faktori potiču hidrolizu LCPUFA iz membrana djelovanjem fosfolipaze  $A_2$  te aktivaciju enzima ciklooksigenaze i lipooksigenaze, koji sudjeluju u biosintezi eikozanoida. S obzirom da se sastav masnih kiselina u membranama može mijenjati prehranom, tako i dobivene slobodne LCPUFA i njihovi metaboliti, koji nastaju aktivacijom navedenih enzima, ovise o prehrani. Molekule koje se aktiviraju i sintetiziraju su: eikozanoidi, faktori rasta koji potiču angiogenezu, matriks metaloproteinaze, reaktivne vrste kisika, ciklički nukleotidi, neurotransmiteri i neuromodulatori, proupalni i imunoregulacijski citokini te proupalni fosfolipidi. Ove molekule sudjeluju u razvoju vaskularnih i neurodegenerativnih bolesti mrežnice. Navedeni bioaktivatori često ne djeluju samostalno nego je njihova aktivnost međusobno isprepletena (SanGiovanni i Chew, 2005).

Fosfolipaza  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>) je enzim koji katalizira hidrolizu masnih kiselina s položaja 2 u molekuli fosfolipida. Time se dobivaju slobodne masne kiseline koje mogu djelovati na brojne načine. Postoji barem 19 različitih grupa fosfolipaza  $A_2$ , a one se dijele u citosolne (cPLA<sub>2</sub>) i sekretorne PLA<sub>2</sub> (sPLA<sub>2</sub>). PLA<sub>2</sub> mogu biti ovisne o kalciju ili neovisne o kalciju. cPLA<sub>2</sub> imaju veću molekulsku masu i imaju veći afinitet prema AA, dok su sPLA<sub>2</sub> manje molekulske mase i



nemaju afinitet prema nekoj određenoj masnoj kiselini (Murakami i Kudo, 2002).

Ciklooksigenaza (COX) je enzim koji pretvara LCPUFA s 20 ugljikovih atoma u skupinu eikozanoida koje nazivamo prostanoidi. Supstrati za COX su AA i EPA. Postoje dvije vrste COX enzima. COX-1 se kontinuirano sintetizira neovisno o stanju u organizmu. Nalazi se u većini stanica i primarno je zadužen za zaustavljanje krvarenja. COX-2 se u većini stanica sintetizira nakon što su u organizmu uočeni citokini ili mitogeni. Međutim, u središnjem živčanom sustavu on se ipak kontinuirano sintetizira i uvijek je prisutan. Zadužen je za sintezu prostanoida koji sudjeluju u upalnim procesima. U *in vitro* sustavima, DHA i EPA djelovali su kao inhibitori COX-1 i COX-2 enzima. Lipooksigenaza (LOX) je enzim koji sudjeluje u sintezi leukotriena (LT) te hidropersieicozatetaenske kiseline (HPETE) i hidroksieikozatetraenske kiseline (HETE). Ove molekule sudjeluju u regulaciji imunološkog sustava (Dyall, 2015).

### 2.3.1 Ishemija

Ishemija je stanje smanjenog dotoka krvi u tkivo što izaziva manjak kisika potrebnog za metabolizam stanice. Ona aktivira PLA<sub>2</sub> i procese koji sudjeluju u razvitku bolesti poput starosne makularne degeneracije, dijabetičke retinopatije i retinopatije nedonoščadi. Ishemija mrežnice je stanje u kojem je dotok kisika u mrežnicu premali da bi se zadovoljile metaboličke potrebe. Potreba za kisikom u mrežnici je veća nego u drugim tkivima. S obzirom da spremišta kisika u tkivima ne postoje, on se kontinuirano mora dovoditi krvotokom. Između 66 % i 85 % kisika u mrežnicu dolazi preko žilnice. Epitel kapilara u žilnici je tanak i fenestriran sa strane okrenutoj prema mrežnici, a zadebljao sa strane okrenutoj prema bjeloočnici. S obzirom da neuroni mrežnice ne mogu izdržati duži period bez kisika, regulacija toka krvi mora biti dobro razvijena i efikasna. Jedan način kojim se to postiže je regulacijom aktivnosti pericita. Periciti su stanice koje okružuju endotelne stanice krvnih žila te komuniciraju s njima direktnim kontaktom te parakrinom signalizacijom. Mogu provoditi kontrolu krvotoka jer imaju mogućnost kontrakcije. U slučaju manjka pericita dolazi do povećane permeabilnosti žila. Gubitak pericita je karakteristika vaskularnih oblika dijabetičke retinopatije Li i Fan, 2023).

Do smanjenog krvotoka u žilnici može doći zbog povećane aktivnosti i agregacije krvnih pločica. To dovodi do začepjenja kapilara te nekroze stanica krvožilnog sustava. Modulatori ishemije su citokini, eikozanoidi i reaktivne vrste kisika.

LCPUFA mogu djelovati na ishemiju na dva načina. Prvi način je kao substrat za eikozanoide koji djeluju kao autokrini i parakrini efektori vaskularne membrane. Drugi način je djelovanjem na metabolizam lipoproteina (SanGiovanni i Chew, 2005). Sastav LCPUFA u membranama definira kakav će biti sastav dobivenih eikozanoida. EPA je prekursor prostainoida serije 3, a AA prostainoida serije 2. Tromboksani i prostaglandini su glavne vrste eikoznoida koje

proizvode krvne pločice. Tromboksen A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) djeluje kao vasokonstriktor i potiče agregaciju pločica. Njegov analog tromboksen A<sub>3</sub> (TXA<sub>3</sub>) ima 10 puta slabije djelovanje. Istraživanje na ljudima s povišenim krvnim tlakom pokazalo je da konzumacija ω-3 masnih kiselina u količini većoj od 3g/dan smanjuje krvni tlak. Također, agregacija krvnih pločica je smanjena konzumacijom ω-3 LCPUFA (Mori i Beilin, 2004).

Drugi način na koji LCPUFA mogu djelovati na ishemiju je djelovanjem na metabolizam lipoproteina. Unos ω-3 LCPUFA može smanjiti koncentraciju triglicerida u serumu. Koliko će se koncentracija triglicerida smanjiti ovisi o dozi. Smanjenje koncentracije uočeno je pri unosu manjem od 2g/dan, a pri unosu od 4g/dan koncentracija triglicerida u plazmi smanjila se za 25-30 %. LCPUFA smanjuju koncentraciju transkripcijskog faktora SREBP-a u jezgri stanice pojačanom proteolizom i inhibicijom transkripcije SREBP-1c. SREBP-1c aktivira transkripciju gena koji kodiraju za enzime koji sudjeluju u sintezi masnih kiselina poput acetyl-CoA karboksilaze, sintaze masnih kiselina i stearoil CoA desaturaze. SREBP-2 aktivira gene koji sudjeluju u inhibiciji sinteze triglicerida. Pojačan katabolizam, a smanjena sinteza masnih kiselina smanjuje količinu substrata potrebnog za sintezu triglicerida (Shibabaw, 2021).

ω-3 djeluju i na način da povećavaju efikasnost proizvodnje energije u mitohondrijima. Mitohondriji su mjesta u stanici gdje nastaje većina reaktivnih vrsta kisika. Povećana efikasnost proizvodnje energije kao posljedicu ima umanjenu sintezu reaktivnih vrsta kisika te smanjeni oksidativni stres. U stanicama štakora koji su pretrpjeli ishemiju uočena je povećana aktivnost mitohondrija i smanjena apoptoza kod grupe koja je u prehrani konzumirala i riblje ulje u odnosu na grupu koja nije (Demaison i sur., 1994).

### 2.3.2 Izloženost svjetlu

Oštećenja izazvana svjetlošću sudjeluju u razvoju starosne makularne degeneracije (AMD). U zdravoj mrežnici vjerojatnost da dođe do oštećenja izazvanih svjetlošću jako je mala unatoč velikom broju molekula koje apsorbiraju svjetlost. ω-3 LCPUFA sudjeluju u regulaciji koncentracije rodopsina. DHA se veže na transportne proteine koji sudjeluju u regeneraciji retinoida. Nakon što se 11-cis-retinal izomerizira u all-trans-retinal, on se hidrolizira s opisna te se reducira u all-trans-retinol. All-trans-retinol transportira se u retinalni pigmentni epitel gdje se oksidira i izomerizira te se time regenerira 11-cis-retinal. All-trans-retinal ima apsorpcijski maksimum u dijelu spektra zračenja visoke energije i kratkih valnih duljina. Povećana koncentracija all-trans-retinala povećava vjerojatnost da će doći do fotooksidacije. All-trans-retinol oštećuje staničnu membranu u većim koncentracijama. Transport retinoida između fotoreceptora i retinalnog pigmentnog epitela provodi transportni protein retinol-vezujući protein (eng. *interphotoreceptor retinoid-binding protein*, IRBP). To je glikoprotein koji

sadrži dva vezna mjesta za retinoide. Najveći afinitet ima za 11-cis-retinal te all-trans-retinol. Osim za retinoide, IRBP ima afinitet za vezanje LCPUFA, s najvećim afinitetom za DHA. Nakon što dođe u kontakt s IRBP-om, DHA istiskuje 11-cis-retinal iz veznog mjesta (Chen i sur., 1996). Važno je naglasiti da postoji gradijent koncentracije DHA između RPE-a i fotoreceptora. DHA sačinjava 3,5 % svih lipida u RPE-u te 20 % svih lipida u fotoreceptorima. Kada se IRBP nalazi u blizini retinalnog pigmentnog epitela, na vezno mjesto za retinoid veže se 11-cis-retinal. Kada IRBP dođe do fotoreceptora, DHA istiskuje 11-cis-retinal iz veznog mjesta. Na vezno mjesto se sada veže all-trans-retinol kojeg IRBP transportira do retinalnog pigmentnog epitela kako bi se reciklirao u 11-cis-retinal. Adaptacija na svjetlo povezana je sa smanjenjem fotooksidacije (Wangsa-Wirawan i Linsenmeier, 2003).

### 2.3.3 Redoks ravnoteža

Reaktivne vrste kisika uočene su u razvoju starosne makularne degeneracije, dijabetičke retinopatije i retinopatije nedonoščadi (Sanz-González i sur., 2020) Reaktivnim vrstama kisika smatramo slobodne radikale, dušikov monoksid, superoksidni anion, singlet kisika te vodikov peroksid. Reaktivne vrste kisika nastaju primarno kao nusprodukti respiracije u mitohondrijima. Proces koji potiču nastanak ovih molekula su kronična i akutna izloženost svjetlu, dim cigareta, ozon te starenje (Balazy i Nigam, 2003).

Slobodni radikali nestabilne su molekule koje imaju jedan ili više nesparenih elektrona. Kako bi postali stabilni oduzimaju elektron susjednoj molekuli čime ta molekula postaje radikal te i ona nastoji oduzeti elektron od druge molekule kako bi se stabilizirala. Dolazi do lančane reakcije i konstantnog stvaranja novih radikala. Slobodni radikali reagiraju s dušikovim bazama u molekuli DNA, bočnim lancima aminokiselina u proteinima te nezasićenim vezama u masnim kiselinama (Ng i sur., 2022).

Fosfolipidi staničnih membrana bogat su izvor elektrona ako njihove masne kiseline sadrže nezasićene veze. Slobodni radikali oduzimaju elektrone iz dvostrukih veza te uzrokuju lipidnu peroksidaciju. Membrane fotoreceptora pogoduju oksidaciji zbog velike količine kisika potrebnog za metabolizam tih stanica te velike koncentracije fotoosjetljivih molekula te nezasićenih masnih kiselina. Selektivno nakupljanje LCPUFA poput DHA i AA u membranama fotoreceptora koji su izrazito metabolički aktivni izgleda nelogično te se čini da će se ovim potaknuti sinteza lipidnih radikala i lipidnih peroksida (Catala, 2011).

Istraživanja *in vitro* pokazala su da dolazi do značajne lipidne peroksidacije u membranama bogatim LCPUFA, međutim to nije slučaj kod istraživanja provedenim *in vivo*. Pretpostavlja se da LCPUFA štite membrane mitohondrija te njihovu funkciju i time smanjuju nastajanje reaktivnih vrsta kisika tako što povećavaju ekspresiju bcl-2 a smanjuju ekspresiju Bax. Bcl-2

je protein koji sprječava apoptozu, a Bax protein koji je potiče (Rotstein i sur., 2003).

#### 2.3.4 Inflamacija / Upala

Inflamacija utječe na razvitak starosne makularne degeneracije i dijabetičke retinopatije (Kaur i Singh, 2022). To je odgovor organizma na ozljedu ili infekciju. Dolazi do pojačanog protoka krvi te povećane permeabilnosti stijenki krvnih žila. Povećana permeabilnost omogućava regulatornim proteinima (poput citokina i antitijela) te leukocitima da iz krvotoka dođu u upaljeno tkivo. U tijelu postoje dvije vrste imunosti: nespecifična, urođena imunost te specifična, stečena imunost. Stanice urođenog imunskog sustava, makrofagi i monociti prezentiraju antigene pomagačkim (helper) i citotoksičnim T limfocitima i aktiviraju ih. T-limfociti sintetiziraju i izlučuju citokine koji potiču staničnu diobu T i B limfocita te reguliraju aktivnost makrofaga, monocita te prirodnoubilačkih stanica. Monociti i makrofagi također mogu proizvoditi citokine. Najznačajniji citokini koje proizvode su tumorski faktor nekroze- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 (IL-1) i interleukin-6 (IL-6), koji djeluju na brojne komponente urođenog i stečenog imunskog sustava. Oko je jako podložno autoimunim bolestima zbog toga što njegove stanice potiču iz sva tri embionska sloja te sadrže velik broj različitih unutarstaničnih i membranskih proteina koji mogu potaknuti imunosnu reakciju (SanGiovanni i Chew, 2005).

Eikozanoidi su molekule koje reguliraju imunosni sustav. EPA je prekursor leukotriena serije 5 te tromboksana i prostanoida serije 3. AA je prekursor leukotriena serije 4 te tromboksana i prostanoida serije 2. Eikozanoidi čiji je prekursor AA djeluju proupalno te povećavaju permeabilnost krvnih žila i sintezu citokina. Leukotrien B<sub>4</sub> potiče sintezu TNF- $\alpha$ , koji regulira sintezu velikog broja drugih citokina. Tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) potiče umnožavanje limfocita. Leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>) osim sinteze TNF- $\alpha$  potiče i agregaciju limfocita, umnožavanje T limfocita te izlučivanje i sintezu interleukina-1 (IL-1) i interleukina-2 (IL-2). LCPUFA utječu i na stečeni i na urođeni imunosni sustav. *In vitro* istraživanja te istraživanja *in vivo* na životinjskim modelima pokazuju pozitivan učinak  $\omega$ -3 LCPUFA na smanjenje upalnih procesa. U oba slučaja došlo je do smanjene proizvodnje TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2 i IL-6 te inhibicije aktivnosti i dijeljenja makrofaga, monocita, prirodnoubilačkih stanica (eng. *natural killer cells*) te T limfocita. Istraživanja na ljudima pokazala su pozitivne učinke na aktivnost leukocita, ali istraživanja utjecaja na sintezu citokina nisu došla do konkretnih zaključaka (Calder, 2010).

#### 2.3.5 Signalni putevi i molekule koje sudjeluju u signalizaciji

Signalni putevi u stanici mogu utjecati na procese razvoja starosne makularne degeneracije, dijabetičke retinopatije i retinopatije nedonoščadi. Odgovor receptora na membrani na različite molekule može se mijenjati promjenom sastava lipida membrane. Primjerice uočeno je da DHA inhibira  $\beta$ -adrenoreceptore koji potiču sintezu cAMP-a. Povećanje koncentracije DHA

rezultiralo je 20 % smanjenom proizvodnjom cAMP-a. Povećane koncentracije cAMP-a uočene su kod miševa s genetski nasljednim bolestima mrežnice. Štakori s mutiranim rodopsinom također imaju povišene koncentracije. EPA i DHA djeluju inhibitorno na adenilat ciklazu (Traverso i sur., 2002).

LCPUFA supstrati su za sintezu endokanabinoida. Oni djeluju kao lokalni hormoni blizu mjesta biosinteze te sudjeluju u autokrinom i parakrinom signalizaciji. Kanabinoidi (CB) se vežu na kanabinoidne receptore povezane s G proteinom. Aktivirani kanabinoidni receptori inhibiraju adenilat ciklazu te N i P/Q kanale kalcijevih iona. Kada je aktiviran kanabinoidni receptor 1, dolazi do aktivacije i mitogenima aktivirane protein kinaze te kanala kalijevih iona. Kanabinoidni signalni sistemi mogu utjecati na osjetljivost na svjetlost tako što reguliraju signalne sustave u bipolarnim i horizontalnim stanicama (Straiker i Sullivan, 2003).

### 2.3.6. Starenje

Starenje je proces koji je karakteriziran smanjenom sposobnošću stanica, tkiva te u konačnici cijelog organizma da izdrži oštećenja kemijske, fizičke ili biološke prirode.

Bruchova membrana je struktura koja se nalazi između koriokapilarisa i retinalnog pigmentnog epitela (eng. *retinal pigment epithelium*, RPE) te omogućava difuziju nutrijenata i metabolita između njih (Booi i sur., 2010). Starenjem dolazi do promjena na Bruchovoj membrani. Dolazi do zadebljanja membrane čime se povećava put koji tvari moraju prijeći te promjena na kolagenu koji izgrađuje Bruchovu membranu. Sve to uzrokuje smanjenu efikasnost difuzije. Također dolazi i do promjena kod lizosomalnih enzima unutar retinalnog pigmentnog epitela. Aktivnosti kiselinske fosfataze i katepsina D povećava se s godinama. Katepsin D je važan enzim koji služi u proteolizi opsin. Aktivnost ovih enzima je važna jer sprječavaju da unutar stanice dođe do taloženja tvari. Istraživanja na majmunima čija je prehrana sadržavala riblje ulje pokazala su pojačanu aktivnost kiselinske fosfataze u odnosu na grupu koja nije konzumirala riblje ulje (Elner, 2002). Ovim postupkom povećava se hidroliza lipida unutar lizosoma te se smanjuje mogućnost taloženja lipofuscina. Lipofuscin je lipidno-proteinski kompleks koji se može taložiti unutar lizosoma. Kod ljudi starih 80 ili više godina, lipofuscin popunjava čak do 20 % stanice retinalnog pigmentnog epitela. On smanjuje volumen citosola potrebnog za odvijanje normalnih staničnih funkcija. Lipofuscin je fotosenzibilan te potiče sintezu reaktivnih vrsta kisika. Najosjetljiviji je na svjetlost kratkih valnih duljina. Starenjem dolazi i do promjene izgleda stanica retinalnog pigmentnog epitela. One mijenjaju oblik iz heksagonalnog u nepravilan oblik što otežava transport nutrijenata do fotoreceptora.

Starenjem dolazi do povećanog oksidacijskog stresa u tkivima. Razlog tomu je smanjeni antioksidacijski potencijal stanice te umanjena mogućnost popravaka oštećenja nastalih

oksidacijom. Također dolazi do promjena u sastavu i fluidnosti membrana mitohondrija, čime se smanjuje efikasnost proizvodnje energije te dolazi do pojačane proizvodnje reaktivnih vrsta kisika (Junqueira i sur., 2004).

Kod ljudi starijih od 60 godina počinje se smanjivati broj astrocita, koji su važan dio granice između same retine i krvi. Oni oblažu kapilare te aksone neurona u mrežnici. U astrocitima također dolazi do taloženja lipofuscina.

Istraživanje na štakorima pokazalo je da je štakorima starenjem opadala stanična koncentracija DHA, međutim promjenom prehrane količine DHA vratile su se na početne vrijednosti. Mehanizam kojim dolazi do smanjenja LCPUFA starenjem nije poznat (Rotstein i sur., 2003).

#### **2.4. UTJECAJ LCPUFA U KRVOŽILNOM SUSTAVU MREŽNICE**

LCPUFA djeluju na staničnu signalizaciju, aktivaciju transkripcijskih faktora i proizvodnju proupalnih medijatora te na taj način djeluju protiv angiogeneze. Angiogeneza je proces stvaranja novih krvnih žila iz već postojećih žila te je karakteristična za brojne bolesti mrežnice (Gariano i Gardner, 2005).

Neovaskularizacija unutar mrežnice odvija se određenim redoslijedom. Prvo dolazi do mehaničkog ili kemijskog oštećenja krvnih žila. Oštećeno tkivo zatim sintetizira lipidne i proteinske molekule koji potiču angiogenezu. Faktori rasta se vežu na endotelne stanice postojećih krvnih žila te aktiviraju receptore na njihovoj površini, koji šalju signale u jezgru stanice. Dolazi do aktivacije signalnih molekula i enzima, koji počinju razgrađivati stijenke postojećih žila te povećavaju njihovu permeabilnost. Endotelne se stanice dijele i počinju gibati u smjeru gradijenta faktora rasta. Sintetizirane adhezijske molekule na površini stanica djeluju na način da povlače vrh novonastale žile prema naprijed, a matriks metaloproteinaze razgrađuju izvanstanični sadržaj ispred novonastalog vrha. Na samom kraju procesa endotelne stanice stvorile se novu krvnu žilu koju okružuju periciti kako bi je dodatno stabilizirali (Das i McGuire, 2003).

Faktori koji podržavaju angiogenezu mogu biti lipidnog i proteinskog podrijetla. Faktori lipidnog podrijetla su eikozanoidi koji nastaju djelovanjem enzima ciklooksigenaze (COX) i lipooksigenaze (LOX). Proteinski faktori su citokini i faktori rasta (Das, 2015).

Eikozanoidi utječu na funkciju krvožilnog sustava tako što sudjeluju u unutarstaničnoj i međustaničnoj signalizaciji. Metaboliti AA imaju snažno djelovanje već pri malim koncentracijama te djeluju kao autokrini hormoni putem receptora povezanih s G proteinima. Eikozanoidi dobiveni iz AA koji najintenzivnije djeluju na angiogenezu su prostaglandin E<sub>2</sub>

(PGE<sub>2</sub>), prostaciklin (PGI<sub>2</sub>), tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) te leukotrien B<sub>4</sub> (LTB<sub>4</sub>). PGE<sub>2</sub> djeluje kao vazodilatator. PGI<sub>2</sub> također djeluje kao vazodilatator te sprječava agregaciju krvnih pločica i leukocita. TXA<sub>2</sub> s druge strane djeluje kao vazokonstriktor i potiče agregaciju krvnih pločica. LTB<sub>4</sub> povećava permeabilnost krvnih žila (Talvani i sur., 2002). Oštećenjem krvnih žila stanice počinju sintetizirati navedene molekule te ostale faktore koji sudjeluju u imunom odgovoru te angiogenezi. Osim navedenog, ovi spojevi potiču i sintezu adhezijskih molekula te migraciju endotelih stanica prema mjestu stvaranja nove žile. ω-3 LCPUFA djeluju tako što mijenjaju dostupne supstrate za sintezu eikozanoida te utječu na enzime koji kataliziraju navedene reakcije. One inhibiraju aktivnost PLA<sub>2</sub> koja je potrebna da bi oslobodili masne kiseline iz membrana te da bi one bile dostupne COX i LOX enzimima. ω-3 i ω-6 natječu se za iste enzime tako da sastav dobivenih eikozanoida ovisi o sastavu masnih kiselina u membrani. Također, eikozanoidi dobiveni iz ω-3 imaju slabije djelovanje od onih dobivenih iz ω-6 (Dorrell i sur., 2007).

U mrežnicama goveda, povećanjem glukoze dolazilo je do povećane sinteze TXA<sub>2</sub> i PGI<sub>2</sub>. Ovi mehanizmi djeluju i kod DR. LTB<sub>4</sub> povećavao je proizvodnju TNF-α, koji se može uočiti u većim količinama kod ljudi s proliferativnom dijabetičkom retinopatijom (Talvani i sur., 2002).

Proteinski aktivatori dijelimo na citokine i faktore rasta. Najutjecajniji su vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) transformirajući faktor rasta β (TGF-β), tumorski faktor nekroze α (TNF-α), interleukin-8 (IL-8) i drugi. Djeluju tako što se vežu na receptore na površini stanica te na taj način aktiviraju signalizaciju unutar stanice koja rezultira sintezom regulatora imuniteta i angiogeneze, staničnim rastom i razmnožavanjem (SanGiovanni i Chew, 2005). Citokini mogu potaknuti migraciju leukocita i permeabilnost žila. Leukotien B<sub>4</sub> izravno povećava sintezu TNF-α, koji povećava proizvodnju velikog broja drugih citokina (interleukina-8, interleukina-6, interferona-γ) (Dorrell i sur., 2007).

Faktori rasta mogu djelovati direktno ili indirektno na epitelne stanice. Direktno djeluju na način da se vežu na površinske receptore i na taj način potiču migraciju i staničnu diobu endotelih stanica. Na ovaj način djeluju polipeptidni faktori rasta poput vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) i fibroblastni faktor rasta (bFGF). Indirektni mehanizam djeluje tako što se inducira kemotakcija makrofaga koji zatim izlučuju VEGF i bFGF (Takahashi i Shibuya, 2005).

VEGF je glikoprotein koji se specifično veže na nekoliko receptorskih tirozin kinaza. Pokazalo se da je on jedan od glavnih razloga progresije dijabetičke retinopatije do proliferativne dijabetičke retinopatije. Utječe na migraciju i proliferaciju endotelih stanica, lučenje metaloproteinaza i kolagenaza te na formiranje krvnih žila. Kod razvoja retinopatije nedonoščadi (ROP) uočeno je djelovanje vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) i

inzulinu sličnog faktora rasta 1 (IGF-1). Razvoj retinopatije nedonoščadi sastoji se od dvije faze. Prva faza je hiperoksična faza koju uzrokuje kisik koji se daje djeci rođenoj prijevremeno. To može izazvati potpuno zatvaranje i odumiranje krvnih žila te ishemiju. Kako se metabolička potreba za kisikom povećava tako hiperoksično stanje prelazi u hipookslično. Dolazi do pojačane sinteze VEGF i neovaskularizacije. IGF-1 regulira aktivaciju mitogenima aktiviranih protein kinaza (MAPk) čiju aktivnost inducira VEGF. MAPk je faktor koji utječe na staničnu diobu endotelnih stanica. Niska koncentracija IGF-1 inhibira aktivaciju protein kinaze B, koja sudjeluje u kontroli aktivacije i preživljavanja endotelnih stanica te u migraciji i adheziji leukocita.  $\omega$ -3 LCPUFA uzrokuju povećanje koncentracije IGF-1. LCPUFA utječu na receptorske tirozin kinaze specifične za VEGF. EPA inhibira aktivaciju navedenih receptora te sprječava proliferaciju endotelnih stanica. EPA također inhibira i aktivaciju MAPk koju inducira VEGF. DHA i AA nemaju utjecaj na ove receptore. EPA, DHA i AA nemaju utjecaja na proliferaciju endotelnih stanica potaknutu bFGF-om niti na aktivaciju MAPk uzrokovanu bFGF-om. EPA utječe na transkripcijski faktor NKkB te inhibira ekspresiju receptorskih tirozin kinaza osjetljivih na VEGF. NFkB također inicira transkripciju COX-2, međustanična adhezijska molekula (ICAM) te sintaze dušikovog monoksida. EPA inhibira i formiranje nove stijenke krvnih žila *in vitro*. Tretiranje stanica s  $\omega$ -3 LCPUFA smanjio je ekspresiju adhezijskih molekula na površini endotelnih stanica (Morita i sur., 2001).

Ekspresiju većine matriks metaloproteinaza induciraju citokini (TNF- $\alpha$ , IL-1), faktori rasta (VEGF, bFGF) te reaktivne vrste kisika. Tkivni inhibitori matriks metaloproteinaza (TIMP) vežu se u aktivno mjesto matriks metaloproteinaza i reguliraju njihovu aktivnost. Aktivaciju matriks metaloproteinaza provode TNF- $\alpha$  i VEGF (Xiao i sur., 2011).

U istraživanju na štakorima pokazalo se da su jedinke čija je prehrana sadržavala DHA imale smanjenu aktivnost matriks metaloproteinaza u odnosu na jedinke čija prehrana nije sadržavala DHA (Harris i sur., 2001).

## **2.5. BOLESTI MREŽNICE**

Navedeni faktori i procesi, koji aktiviraju PLA<sub>2</sub>, COX i LOX enzime te induciraju sintezu i aktivaciju navedenih molekula, sudjeluju i utječu na razvoj velikog broja bolesti mrežnice. Najznačajnije bolesti retine su dijabetička retinopatija, starosna makularna degeneracija te retinopatija nedonoščadi. Do razvoja ovih bolesti dolazi uslijed abnormalne neovaskularizacije te degradacije neurona.

### **2.5.1 Dijabetička retinopatija (DR)**

Dijabetička retinopatija najčešća je bolest mrežnice te jedan od glavnih uzroka sljepoće kod



ljudi starih između 18 i 55 godina (Suzumura i sur., 2020). 40-50 % ljudi s dijabetesom ima neki oblik dijabetičke retinopatije. Ova bolest može biti asimptomatska kroz nekoliko godina prije pojave prvih simptoma, što otežava otkrivanje bolesti te pravovremeno liječenje. Ukoliko se ne tretira može doći do razvoja neproliferativnog oblika dijabetičke retinopatije u proliferativni oblik dijabetičke retinopatije koji može uzrokovati značajna oštećenja vida, a potencijalno i sljepoću. 50 % ljudi koji boluju od dijabetesa tipa 1 duže od 15 godina obole od progresivnog oblika dijabetičke retinopatije, dok se kod ljudi s dijabetesom tipa 2 ta brojka kreće oko 10 %. Poremećaj u metabolizmu glukoze može dovesti do povećanja koncentracije reaktivnih vrsta kisika te oksidativnog stresa. Progresiju dijabetičke retinopatije uzrokuje akumulacija oštećenja unutar mrežnice s vremenom. Stanice koje dijabetička retinopatija najviše pogađa su endotelne stanice, periciti i astrociti, odnosno stanice koje tvore granicu između neurona mrežnice i krvotoka. U novijim istraživanjima pokazalo se da upalni procesi imaju značajnu ulogu u razvoju dijabetičke retinopatije (Rübsam i sur., 2018).

Dijabetička retinopatija utječe na krvne žile te izaziva kapilarnu okluziju, odnosno začepljenje kapilara. To je jedna od glavnih karakteristika bolesti. Visoka koncentracija glukoze u krvi oštećuje endotelne stanice te dolazi do zadebljanja i začepljenja kapilara. Oštećenje endotelnih stanica dovodi i do povećane permeabilnosti žila te potencijalno do krvarenja. Također dolazi do apoptoze pericita, a posljedično i endotelnih stanica. U početku bolesti pojavljuju se mikroaneurizme i točkasta krvarenja na kapilarama. Mikroaneurizme su mala proširenja krvnih žila. S progresijom bolesti dolazi do povećanja aneurizmi i intenziteta krvarenja što utječe na krvotok kroz kapilare te može dovesti do ishemije. U kasnijim fazama bolesti dolazi do pojačane neovaskularizacije (Piñas García i sur., 2022). Nekontrolirana i pojačana proliferacija endotelnih stanica uzrokuje povećana koncentracija VEGF-a. Nove žile koje nastaju neovaskularizacijom mogu probiti unutrašnju limitirajuću membranu te izazvati odvajanje retine od staklovine. Još jedna od potencijalnih simptoma dijabetičke retinopatije je makularni edem. Pojačana permeabilnost uzrokuje istjecanje krvne plazme iz kapilara. To dovodi do nakupljanja lipida i lipoproteina ispod makule čime ona bubri te izaziva poremećaj fokusiranog, oštrog vida (Tranos i sur., 2004).

Kronično odumiranje neurona je važna komponenta dijabetičke retinoparije do koje dolazi uslijed ishemije koja nastaje začepljenjem kapilara (Cubillos i Kazlauskas, 2024). Također, dolazi do pojačane fosforilacije fibrilarnih proteina koji sačinjavaju aksone živčanih stanica. Dijabetes utječe i na Müllerove glije koje imaju ulogu u regulaciji glutamata. Dolazi do akumulacije glutamata koja djeluje toksično. Dolazi i do promjene u strukturi i funkciji astrocita. Zbog apoptoze neurona, smanjuje se debljina retine te broj živčanih stanica (Barber, 2003).

Istraživanja pokazuju da  $\omega$ -3 mogu pozitivno djelovati na simptome i razvoj dijabetičke

retinopatije.  $\omega$ -3 djeluju tako što umanjuju oksidacijski stres i upalne procese koji mogu uzrokovati apoptozu stanica te umanjuju ekspresiju vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) i međustanične adhezijske molekule 1 (ICAM-1), molekula koje imaju važnu ulogu u neovaskularizaciji. Tkiva koja su oštećena dijabetičkom retinopatijom imaju povećanu ekspresiju proupalnih medijatora poput interleukina-6, interleukina--8, tumorskog faktora nekroze- $\alpha$  i prostaglandina E2. Osim toga pojačana je aktivnost transkripcijskog faktora NF $\kappa$ B.  $\omega$ -3 masne kiseline djeluju na te komponente tako što inhibiraju aktivnost NF $\kappa$ B te reguliraju sintezu proupalnih medijatora (Komatsu i sur., 2003).

Miševi koji su dobivali hranu obogaćenu s  $\omega$ -3 imali su manju koncentraciju proupalnih eikozanoida i faktora rasta koji potiču angiogenezu. Istraživanja na štakorima pokazala su da sve tri  $\omega$ -3 masne kiseline inhibiraju akumulaciju reaktivnih vrsta kisika koje nastaju uslijed povećane koncentracije glukoze (Cubillos i Kazlauskas, 2024). Suplementacija s  $\omega$ -3 PUFA inhibira propadanje neurona i posljedične promjene u funkciji retine u modelima koji simuliraju dijabetičku retinopatiju.  $\omega$ -3 masne kiseline preveniraju stanjivanje retine i nekrozu krvnih žila. Suplementacija s DHA i EPA umanjila je opasnost od progresije dijabetičke retinopatije (Piñas García i sur., 2022).

#### 2.5.2 Starosna makularna degeneracija (AMD)

Starosna makularna degeneracija je glavni uzroka sljepoće kod ljudi starijih od 65 godina. 30 % ljudi starosti između 65 i 75 godina imaju neki oblika starosne makularne degeneracije (SanGiovanni i Chew, 2005).

U ranim fazama bolesti dolazi do taloženja izvanstaničnog materijala između bazalne lamine retinalnog pigmentnog epitela i unutrašnjeg sloja kolagena Bruchove membrane. Nataloženi materijal čine kompleks proteina i lipida koji se naziva drusen. Do taloženja dolazi uslijed nepotpune razgradnje vanjskih segmenata fotoreceptora. Nakupljanje izaziva povećan oksidacijski stres. Mogu se razviti i upalni procesi te sintetizirati faktori koji potiču angiogenezu što izaziva neovaskularizaciju kapilara u žilnici. Taloženje drusena ne mora nužno izazvati oštećenja vida, ali ljudi s nakupinama drusena imaju povećan rizik od progresije prema uznapredovalim fazama starosne makularne degeneracije.

Uznapredovale oblike bolesti karakterizira geografska atrofija, depigmentacija retinalnog pigmentnog epitela, odvajanje retinalnog pigmentnog epitela od mrežnice i neovaskularizacija žilnice. Postoje dva tipa starosne makularne degeneracije: suhi (atrofični) te vlažni (neovaskularni). Iako 90 % ljudi koji boluju od starosne makularne degeneracije ima suhi tip, 90 % ljudi koji su oslijepili uslijed razvoja ove bolesti ima vlažni tip. Suhi tip može prijeći u vlažni tip, ali to se ne mora nužno dogoditi (Brito i sur., 2024).

Vlažni (neovaskularni) tip karakterizira neovaskularizacija žilnice, točnije rast novih krvnih žila koriokapilarisu. Novonastale krvne žile mogu probiti Bruchovu membranu i retinalni pigmentini epitel. Dolazi do krvarenja te se ispod makule razvija naslaga ožiljnog tkiva.

Suhi tip karakterizira postepeno propadanje retinalnog pigmentnog epitela i fotoreceptora. Geografska atrofija je krajnji oblik suhe starosne makularne degeneracije. Dolazi do apoptoze retinalnog pigmentnog epitela, fotoreceptora i stanica unutarnjeg nuklearnog sloja. Stanice u foveji najčešće propadaju tek u kasnim fazama bolesti prije nego li dođe do samog gubitka vida. Geografska atrofija ne uključuje abnormalnu neovaskularizaciju (Brito i sur., 2024). Geografska atrofija dovodi do uočljivih područja atrofije stanica mrežnice koja podsjećaju na geografske karte po čemu je bolest i dobila ime.

Starosna makularna degeneracija također izaziva i promjene u građi i funkciji astrocita i Müllerovih glija. U mrežnicama starijih osoba s uznapredovalim fazama ove bolesti nalazi se veliki broj reaktivnih i hipertrofiranih astrocita u kojima se nalaze velike količine istaloženog lipofuscina.

$\omega$ -3 LCPUFA djeluju preventivno na razvoj starosne makularne degeneracije. Vjerojatnost oboljenja smanjuje se unosom DHA, ribljeg ulja ili ribe. Klinička studija pokazala je da je razvitak ove bolesti do kasnijih faza bolesti kod ljudi s povišenim unosom  $\omega$ -3 LCPUFA bio za 30 % manji nego kod ljudi sa sniženim unosom tih masnih kiselina. Suplementacija s DHA i EPA također ima potencijala u cilju prevencije starosne makularne degeneracije (Schleicher i sur., 2013).  $\omega$ -3 LCPUFA umanjuju taloženje drusena i negativne promjene u fotoreceptorima i retinalnom pigmentnom epitelu. Također, kod ljudi koji boluju od starosne makularne degeneracije uočen je manjak  $\omega$ -3 LCPUFA u membranama fotoreceptora. Mehanizam kojim starost i starosna makularna degeneracija smanjuju koncentraciju LCPUFA nije u potpunosti objašnjen. Nedovoljan unos  $\omega$ -3 LCPUFA prehranom i nakupljanje  $\omega$ -6 LCPUFA koji potiču upale imaju utjecaj (Ren i sur., 2022).

### 2.5.3. Retinopatija nedonoščadi ili prematurna retinopatija (ROP)

Retinopatija nedonoščadi je glavni uzročnik sljepoće tijekom djetinjstva. Najveću vjerojatnost da će doći do razvoja bolesti imaju djeca jako male mase prilikom rođenja, odnosno djeca rođena prijevremeno (Zhang i sur., 2024).

Simptomi uznapredovalih oblika retinopatije nedonoščadi su fibrovaskularna proliferacija, istjecanje iz krvnih žila te odvajanje retine od staklovine. Ova bolest javlja se kada mrežnica prilikom rođenja nije u potpunosti prokrvljena. Nedonoščad se često izlaže kisiku što uzrokuje apotozu stanica već postojećih kapilara. U mrežnici oka razvijaju se dijelovi bez krvnih žila. Kako se dijete razvija te metaboličke potrebe oka rastu, krvotok više ne može dovoditi dovoljno

kisika pa mrežnica prelazi iz stanja hiperoksije u stanje hipoksije. Ovo stanje dovodi do ishemije te aktivacije faktora 1 induciranog hipoksijom (HIF-1). Ishemija uzrokuje degradaciju fotoreceptora i astrocita (Carré i sur., 2023). HIF-1 je transkripcijski faktor koji potiče transkripciju VEGF-a i gena koji kodiraju za faktore rasta, proteinaze te molekule na površini stanica. Na kraju dolazi do pojave neovaskularizacije. Nove krvne žile mogu probiti unutrašnju limitirajuću membranu te može doći do odvajanja retine od staklovine (Mandala i sur., 2023). VEGF je ključan faktor rasta koji utječe na razvoj retinopatije nedonščadi.  $\omega$ -3 LCPUFA smanjuju ekspresiju VEGF-a tako što blokiraju receptore za VEGF te utječu na druge faktore koji sudjeluju u neovaskularizaciji kako je opisano u poglavlju 2.4.

### 3 ZAKLJUČCI

1. Iako efikasno nakupljanje masnih kiselina podložnih oksidaciji u tkivu s velikom metaboličkom aktivnošću djeluje kontraintuitivno, dokazano je da  $\omega$ -3 LCPUFA imaju važnu ulogu u održavanju normalne funkcije oka te u prevenciji bolesti.
2. DHA je važna strukturna komponenta membrana fotoreceptora. EPA je prekursor eikozanoida te na taj način djeluje protuupalno.
3.  $\omega$ -3 LCPUFA služe kao prekursori i drugih molekula poput endokanabinoida. One utječu na ekspresiju i aktivaciju brojnih molekula čije djelovanje utječe na bolesti mrežnice. Primjeri takvih molekula su citokini i faktori rasta.
4.  $\omega$ -3 masne kiseline inhibiraju sintezu citokina te sprječavaju vezanje VEGF-a na receptore što bi potaknulo neovaskularizaciju u mrežnici. One djeluju i kao ligandi za transkripcijske faktore koji aktiviraju gene za proteine i molekule koje sudjeluju u upalnim procesima i abnormalnoj angiogenezi.
5. S obzirom da većina populacije prehranom ne unosi preporučene dnevne doze DHA i EPA, promjenom prehrane ili suplementacijom možemo pozitivno djelovati na zdravlje očiju.  $\omega$ -3 LCPUFA imaju preventivno djelovanje te pozitivno utječu na simptome dijabetičke retinopatije, senilne makularne degeneracije i retinopatije nedonoščadi. Ove tri bolesti glavni se uzroci sljepoće kod različitih dobnih skupina.
6. Daljnja istraživanja trebala bi se fokusirati na preciziranje optimalnog unosa  $\omega$ -3 masnih kiselina kod različitih oboljenja te optimalnog omjera DHA i EPA te ostalih masnih kiselina u suplementima.
7. Zanimljivo bi bilo i proučiti kakve interakcije  $\omega$ -3 LCPUFA imaju sa drugim nutrijentima poput vitamina i minerala u prevenciji bolesti oka.

#### 4 POPIS LITERATURE

- Balazy M, Nigam S (2003) Aging, lipid modifications and phospholipases—new concepts. *Ageing Res Rev* **2**, 191–209. [https://doi.org/10.1016/S1568-1637\(02\)00065-X](https://doi.org/10.1016/S1568-1637(02)00065-X)
- Barber AJ (2003) A new view of diabetic retinopathy: a neurodegenerative disease of the eye. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* **27**, 283–290. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(03\)00023-X](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(03)00023-X)
- Booij JC, Baas DC, Beisekeeva J, Gorgels TGMF, Bergen AAB (2010) The dynamic nature of Bruch's membrane. *Prog Retin Eye Res* **29**, 1–18. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2009.08.003>
- Brito M, Sorbier C, Mignet N, Boudy V, Borchard G, Vacher G (2024) Understanding the Impact of Polyunsaturated Fatty Acids on Age-Related Macular Degeneration: A Review. *Int J Mol Sci* **25**. <https://doi.org/10.3390/ijms25074099>
- Calder PC (2010) Omega-3 fatty acids and inflammatory processes. *Nutrients* **2**, 355–374. <https://doi.org/10.1042/BST20160474>
- Carré C, Acar N, Daruich A, Grégoire S, Martine L, Buteau B, i sur. (2023) Study protocol of OmegaROP-2 prospective study: expression of placental fatty acid receptors in preterm newborns with retinopathy of prematurity. *BMC Ophthalmol* **23**, <https://doi.org/10.1186/s12886-023-03156-0>
- Catala A (2011) Lipid peroxidation of membrane phospholipids in the vertebrate retina. *Front Biosci* **3**, 52–60. <https://doi.org/10.2741/s131>
- Chen Y, Houghton LA, Brenna JT, Noy N (1996) Docosahexaenoic acid modulates the interactions of the interphotoreceptor retinoid-binding protein with 11-cis-retinal. *JBC* **271**, 20507–20515. <https://doi.org/10.1074/jbc.271.34.20507>
- Cubillos S, Kazlauskas A (2024) Manifestation of Pathology in Animal Models of Diabetic Retinopathy Is Delayed from the Onset of Diabetes. *Int J Mol Sci* **25**, 1610. <https://doi.org/10.3390/ijms25031610>
- Das A, McGuire PG (2003) Retinal and choroidal angiogenesis: pathophysiology and strategies for inhibition. *Prog Retin Eye Res* **22**, 721–748. <https://doi.org/10.1016/J.PRETEYERES.2003.08.001>
- Das UN (2015) Cytokines, angiogenic, and antiangiogenic factors and bioactive lipids in preeclampsia. *Nutrition* **31**, 1083–1095. <https://doi.org/10.1016/J.NUT.2015.03.013>
- Demaison L, Sergiel JP, Moreau D, Grynberg A (1994) Influence of the phospholipid n-6/n-3 polyunsaturated fatty acid ratio on the mitochondrial oxidative metabolism

before and after myocardial ischemia. *BBA* **1227**, 53–59. [https://doi.org/10.1016/0925-4439\(94\)90106-6](https://doi.org/10.1016/0925-4439(94)90106-6)

- Dorrell M, Uusitalo-Jarvinen H, Aguilar E, Friedlander M (2007) Ocular Neovascularization: Basic Mechanisms and Therapeutic Advances. *Surv Ophthalmol* **52**, 3–19. <https://doi.org/10.1016/J.SURVOPHTHAL.2006.10.017>
- Dyllal SC (2015) Long-chain omega-3 fatty acids and the brain: A review of the independent and shared effects of EPA, DPA and DHA. *Front Aging Neurosci* **7**, 25. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00052>
- Elner VM (2002) Retinal pigment epithelial acid lipase activity and lipoprotein receptors: effects of dietary omega-3 fatty acids. *Trans Am Ophthalmol Soc* **100**, 301–338.
- Gariano RF, Gardner TW (2005) Retinal angiogenesis in development and disease. *Nature* **438**, 960–966. <https://doi.org/10.1038/nature04482>
- Irsch K, Guyton DL (2009) Anatomy of Eyes. In: Encyclopedia of Biometrics. Springer USA, 11–16.
- Junqueira VBC, Barros SBM, Chan SS, Rodrigues L, Giavarotti L, Abud RL, i sur. (2004) Aging and oxidative stress. *Mol Aspects Med* **25**, 5–16. <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2004.02.003>
- Kaur G, Singh NK (2022) The role of inflammation in retinal neurodegeneration and degenerative diseases. *Int J Mol Sci* **23**, 386. <https://doi.org/10.3390/ijms23010386>
- Kidd PM (2007) Omega-3 DHA and EPA for Cognition, Behavior, and Mood: Clinical Findings and Structural-Functional Synergies with Cell Membrane Phospholipids. *Altern Med Rev* **12**, 207–227.
- Kim HY, Akbar M, Kim YS (2010) Phosphatidylserine-dependent neuroprotective signaling promoted by docosahexaenoic acid. *PLEFA* **82**, 165–172. <https://doi.org/10.1016/J.PLEFA.2010.02.025>
- Komatsu W, Ishihara K, Murata M, Saito H, Shinohara K (2003) Docosahexaenoic acid suppresses nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in interferon- $\gamma$  plus lipopolysaccharide-stimulated murine macrophages by inhibiting the oxidative stress. *Free Radic Biol Med* **34**, 1006–1016. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(03\)00027-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(03)00027-3)
- Kris-Etherton PM, Taylor DS, Yu-Poth S, Huth P, Moriarty K, Fishell V, i sur. (2000) Polyunsaturated fatty acids in the food chain in the United States. *Am J Clin Nutr* **71**, 179S–188S. <https://doi.org/10.1093/AJCN/71.1.179S>

- Lamb TD, Curtin J (2022) Physiology 2021 symposium 'Photoreceptors in Health and Monogenic Disease. *J Physiol* **600**, 4585–4601. <https://doi.org/10.1113/JP282058#support-information-section>
- Li P, Fan H (2023) Pericyte Loss in Diseases. *Cells* **12**, 1931. <https://doi.org/10.3390/cells12151931>
- Mandala VK, Urakurva AK, Gangadhari S, Kotha R (2023) The Effects of Early Enteral and Parental Nutrition on Retinopathy of Prematurity: A Systematic Review. *Cureus* **5**, 49029. <https://doi.org/10.7759/cureus.49029>
- Mori TA, Beilin LJ (2004) Omega-3 Fatty Acids and Inflammation. *Curr Atheroscler Rep* **6**, 461-467. <https://doi.org/10.1007/s11883-004-0087-5>
- Morita I, Zhang YW, Murota SI (2001) Eicosapentaenoic Acid Protects Endothelial Cell Function Injured by Hypoxia/Reoxygenation. *Ann N Y Acad Sci* **947**, 394-397. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2001.tb03971.x>
- Murakami M, Kudo I (2002) Phospholipase A2. *J Biochem* **131**, 285-292.
- Ng SCW, Furman R, Axelsen PH, Shchepinov MS (2022) Free Radical Chain Reactions and Polyunsaturated Fatty Acids in Brain Lipids. *ACS Omega* **7**, 25337–25345. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c02285>
- Piñas García P, Javier Hernández Martínez F, Aznárez López N, Castellón Torre L, Eugenia Tena Sempere M (2022) Supplementation with a Highly Concentrated Docosahexaenoic Acid (DHA) in Non-Proliferative Diabetic Retinopathy: A 2-Year Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Study. *Antioxidants* **11**, 116. <https://doi.org/10.3390/antiox11010116>
- Politi LE, Rotstein NP, Carri NG (2001) Effect of GDNF on Neuroblast Proliferation and Photoreceptor Survival: Additive Protection with Docosahexaenoic Acid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **42**, 3008-3011.
- Ren J, Ren A, Deng X, Huang Z, Jiang Z, Li Z, et al. (2022) Long-Chain Polyunsaturated Fatty Acids and Their Metabolites Regulate Inflammation in Age-Related Macular Degeneration. *J Inflamm Res* **15**, 865–880.
- Rotstein NP, Politi LE, German OL, Girotti R (2003) Protective effect of docosahexaenoic acid on oxidative stress-induced apoptosis of retina photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **44**, 2252–2259. <https://doi.org/10.1167/iovs.02-0901>
- RübSam A, Parikh S, Fort PE (2018) Role of inflammation in diabetic retinopathy. *Int J Mol Sci* **19**, 942. <https://doi.org/10.3390/ijms19040942>



- Saini RK, Keum YS (2018) Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids: Dietary sources, metabolism, and significance — A review. *Life Sci* **203**, 255–267. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.04.049>
- SanGiovanni JP, Chew EY (2005) The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in health and disease of the retina. *Prog Retin Eye Res* **24**, 87–138. <https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2004.06.002>
- Sanz-González SM, García-Medina JJ, Zanón-Moreno V, López-Gálvez MI, Galarreta-Mira D, Duarte L, i sur. (2020) Clinical and molecular-genetic insights into the role of oxidative stress in diabetic retinopathy: Antioxidant strategies and future avenues. *Antioxidants* **9**, 1–19. <https://doi.org/10.3390/antiox9111101>
- Schleicher M, Weikel K, Garber C, Taylor A (2013) Diminishing risk for age-related macular degeneration with nutrition: A current view. *Nutrients* **5**, 2405–2456. <https://doi.org/10.3390/nu5072405>
- Shahidi F, Ambigaipalan P (2018) The Annual Review of Food Science and Technology is online at food. *Annu Rev Food Sci Technol* **9**, 16–17. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-111317>
- Shibabaw T (2021) Omega-3 polyunsaturated fatty acids: anti-inflammatory and anti-hypertriglyceridemia mechanisms in cardiovascular disease. *Mol Cell Biochem* **476**, 993–1003. <https://doi.org/10.1007/s11010-020-03965-7>
- Shichida Y, Matsuyama T (2009) Evolution of opsins and phototransduction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* **364**, 2881–2895. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0051>
- Simopoulos AP (2002) The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomed Pharmacother* **56**, 365-379. [https://doi.org/10.1016/s0753-3322\(02\)00253-6](https://doi.org/10.1016/s0753-3322(02)00253-6)
- Straiker A, Sullivan JM (2003) Cannabinoid receptor activation differentially modulates ion channels in photoreceptors of the tiger salamander. *J Neurophysiol* **89**, 2647–2654. <https://doi.org/10.1152/jn.00268.2002>
- Suzumura A, Terao R, Kaneko H (2020) Protective effects and molecular signaling of n-3 fatty acids on oxidative stress and inflammation in retinal diseases. *Antioxidants* **9**, 1–25. <https://doi.org/10.3390/antiox9100920>
- Szel A, Cafffi AR (1996) Distribution of Cone Photoreceptors in the Mammalian Retina. *Microsc Res Tech* **35**, 445-462. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0029\(19961215\)35:6<445::AID-JEMT4>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0029(19961215)35:6<445::AID-JEMT4>3.0.CO;2-H)

- Takahashi H, Shibuya M (2005) The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clin Sci* **109**, 227–241. <https://doi.org/10.1042/CS20040370>
- Talvani A, Machado FS, Santana GC, Klein A, Barcelos L, Silva JS, i sur. (2002) Leukotriene B4 induces nitric oxide synthesis in Trypanosoma cruzi-infected murine macrophages and mediates resistance to infection. *Infect Immun* **70**, 4247–4253. <https://doi.org/10.1128/IAI.70.8.4247-4253.2002>
- Tranos PG, Wickremasinghe SS, Stangos NT, Topouzis F, Tsinopoulos I, Pavesio CE (2004) Macular edema. *Surv Ophthalmol* **49**, 470–490. <https://doi.org/10.1016/J.SURVOPHTHAL.2004.06.002>
- Traverso V, Bush RA, Sieving PA, Deretic D (2002) Retinal cAMP Levels during the Progression of Retinal Degeneration in Rhodopsin P23H and S334ter Transgenic Rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **43**, 1655-1661.
- Wangsa-Wirawan ND, Linsenmeier RA (2003) Retinal Oxygen Fundamental and Clinical Aspects. *Arch Ophthalmol* **121**, 547-557. <https://doi.org/10.1001/archophth.121.4.547>
- Wong-Riley M (2010) Energy metabolism of the visual system. *Eye Brain* **2**, 99-116. <https://doi.org/10.2147/eb.s9078>
- Xiao Z, Liu Q, Mao F, Wu J, Lei T (2011) TNF- $\alpha$ -induced VEGF and MMP-9 expression promotes hemorrhagic transformation in pituitary adenomas. *Int J Mol Sci* **12**, 4165–4179. <https://doi.org/10.3390/ijms12064165>
- Zhang L, Buonfiglio F, Fieß A, Pfeiffer N, Gericke A (2024) Retinopathy of Prematurity—Targeting Hypoxic and Redox Signaling Pathways. *Antioxidants* **13**, 148. <https://doi.org/10.3390/antiox13020148>

### **Izjava o izvornosti**

Ja Marin Vrdoljak izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

---

Vlastoručni potpis