

ЭКСПРЕССИЯ MMP В СЛЕЗЕ У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМОЙ

Соколов В.А.¹, Леванова О.Н.¹, Никифоров А.А.¹, Дмитриева М.Н.¹

¹ГБОУ ВПО «Рязанский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Минздрава Российской Федерации, 390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, д. 9.

Работа посвящена изучению матриксных металлопротеиназ-2 и -9 (MMP-2, MMP-9) в слезной жидкости у больных первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) и у группы контроля. Выявлен достоверно повышенный уровень MMP-2 и MMP-9 у глаукомных больных. Особой ценностью данного исследования является то, что уровень металлопротеиназ значительно выше в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ уже на начальной стадии патологического процесса ($p=0,002$ и $p=0,000004$). Это дает возможность использовать показатели уровней MMP-2 и MMP-9 в качестве маркеров скринингового метода диагностики данного заболевания. В ходе нашего исследования выявлена зависимость между уровнем MMP-9 и стадией заболевания: концентрация MMP-9 у больных с начальной и развитой стадиями глаукомы достоверно ниже, чем у больных с далекозашедшей и терминальной стадиями болезни ($p=0,03$). Таким образом, концентрация MMP-9 в слезной жидкости может служить критерием прогрессирования ПОУГ. Выявлено отсутствие зависимости концентрации MMP-2 и стадии патологического процесса: не были статистически значимыми различия концентраций MMP-2 между группами пациентов с ПОУГ ($p>0,05$).

Ключевые слова: матриксная металлопротеиназа-2, матриксная металлопротеиназа-9, первичная открытоугольная глаукома.

MMP EXPRESSION IN LACRIMAL FLUID OF PATIENTS WITH PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA

Sokolov V.A.¹, Levanova O.N.¹, Nikiforov A.A.¹, Dmitrieva M.N.¹

¹State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education "I.P. Pavlov Ryazan State Medical University" of Ministry of Healthcare and Social Development of Russia, 390026, Ryazan, Visokovoltmaya Street, 9.

Work is devoted to the study of matrix metalloproteinase-2 and -9 (MMP-2, MMP-9) in the tear fluid of patients with primary open-angle glaucoma (POAG) and the control group. Revealed significantly increased content of MMP-2 and MMP-9 in lacrimal fluid in patients POAG. The level of MMP-2 and MMP-9 is significantly higher in lacrimal fluid of patients with POAG already at the initial stage of the pathological process ($p=0,002$ и $p=0,000004$). This enables the indicators of the levels of MMP-2 and MMP-9 as markers screening method in diagnosing the disease. Increase of MMP-9 levels serves as a criterion for the disease progression. In our study, the dependence between the level of MMP-9 and the stage of disease: the concentration of MMP-9 in patients with primary and advanced stages of glaucoma was significantly lower than in patients with terminal stages of the disease ($p = 0.03$). Thus, the concentration of MMP-9 in the lachrymal fluid can serve as a criterion for progression of POAG. The absence of the concentration of MMP-2 and the stage of the pathological process: were not statistically significant differences in the concentrations of MMP-2 between the groups of patients with POAG ($p> 0.05$).

Keywords: primary open-angle glaucoma, matrix metalloproteinases-2, matrix metalloproteinases-9.

Введение

Глаукома является одной из актуальных проблем современной офтальмологии. В настоящее время около 10-15% больных глаукомой, даже при адекватном лечении, обречены на слепоту.

Первичная открытоугольная глаукома – это хроническое заболевание глаза, которое характеризуется повышением уровня внутриглазного давления (ВГД), поражающего

зрительный нерв, вызывающего нарушение полей зрения и приводящее к необратимой слепоте при отсутствии лечения.

Основой профилактики слепоты от глаукомы является диагностика заболевания на ранних этапах его развития. Если учесть, что ПОУГ чаще начинается незаметно, характеризуется длительным латентным периодом, малой и скрытой симптоматикой, то постановка диагноза на ранних стадиях является сложной задачей не только для начинающих, но и достаточно опытных офтальмологов. Наличие глаукоматозной экскавации, специфические изменения полей зрения позволяют поставить диагноз глаукомы, но эти симптомы характерны для более поздних стадий заболевания уже при значительной потере зрительных функций. Поэтому проблема ранней диагностики ПОУГ остается актуальной.

Несмотря на многолетние исследования, причины этого заболевания до сих пор остаются неопределенными. Некоторые недавние публикации касаются роли матриксных металлопротеиназ (ММП) – протеолитических ферментов в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы (ПОУГ). Увеличение их секреции ведет к деградации компонентов внеклеточного матрикса, что приводит к повреждению тканей глаза и изменению их свойств. Структурные расстройства, возникающие при этом, являются причиной прогрессирования глаукомной оптической нейропатии [4].

Матриксные металлопротеиназы объединены в большое семейство кальций- и цинксодержащих экстрацеллюлярных эндопротеаз, которые связаны с клеточной мембраной, обладают способностью разрушать экстрацеллюлярный матрикс (ЕСМ), активно участвуют в морфогенезе многих органов и тканей человека [9].

ММП сгруппированы в четыре основных подсемейства, основанных на их реакции (специфике) к различным внеклеточным матричным компонентам, и включают коллагеназы (ММП-1,-8,и-13), желатиназы (ММП-2 и-9), стромелисины (ММП-3,-10, и-11), мембранный тип ММПs и другие типы, включая матриксин (ММП-7) и металлоэластазу (ММП-12) [7].

Металлопротеиназы исследовали путем гистологических, морфологических, иммуноферментных методов в различных структурах глаза: в теноновой капсуле, в трабекулярной сети и во внутренней стенке шлеммова канала [8], в ганглионарных клетках сетчатки, на всем протяжении зрительного нерва [9].

Повышение уровня ММП обнаружено не только в тканях глаза. У людей с глаукомой увеличение экспрессии ММП-9 и ММП-14 были обнаружены в лимфоцитах, что, вероятно, связано с результатами длительной ишемии [3].

Доказана роль ММП в апоптозе ганглиозных клеток при глаукоме. У мышей с удаленным геном, кодирующим образование ММП-9, в той же степени, как и у животных, у которых ММП-9 фармакологически ингибирована, ретинальные клетки не умирают от апоптоза [5].

Полагают, что главной причиной патологического ремодулирования решетчатой пластинки является избыточный синтез матриксных металлопротеиназ. Следствием является то, что ткань (как невральная, так и склеральная) при повреждении не замещается рубцовой тканью. Именно этим обстоятельством можно объяснить, почему при глаукоме происходит потеря невральной ткани и формирование экскавации [2].

Большинство публикаций посвящено желатиназам (ММР-2 и ММР-9) в патогенезе ПОУГ. Однако анализ слезной жидкости, как наиболее доступной среды для исследования, встречается в единичных работах и касается лишь экспрессии ММР-9 (желатиназа В) [1].

Вышеизложенное позволило сформулировать цели настоящего исследования.

Цель работы

1. Определить концентрацию ММР-2 и ММР-9 в слезной жидкости у больных с ПОУГ и у группы контроля.
2. Установить зависимость концентрации ММР-2 и ММР-9 от стадии прогрессирования ПОУГ.
3. Изучить прогностическую значимость экспрессии ММР-2 и ММР-9 в слезной жидкости у больных ПОУГ.

Материалы и методы

Биохимические исследования проводили 80 пациентам, находящимся на диспансерном учете в поликлиническом отделении Государственного бюджетного учреждения Рязанской области «Клинической больницы им. Н.А. Семашко», из них 68 больных с различными стадиями ПОУГ.

Контрольную группу составили 12 человек, не страдающих ПОУГ, с различной соматической возрастной патологией, сопоставимой с основной группой.

Возраст обследованных (из них 31 женщина и 49 мужчин) колебался от 32 до 84 лет и в среднем составил 62,7 года.

Исследование слезной жидкости производилось на базе центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО «РязГМУ» Минздрава России.

Больные глаукомой разделены на 3 группы:

- 1-я - 31 человек с начальной и развитой стадиями заболевания;
- 2-я - 23 человека с развитой и далекозашедшей стадиями заболевания;
- 3-я - 14 человек с далекозашедшей и терминальной стадиями процесса.

Материалом исследования служила слезная жидкость, забор которой производился атравматично из нижнего мениска с помощью стеклянного капилляра, не прибегая к местной анестезии.

Количественная оценка уровней MMP-2 и MMP-9 определялась методом сэндвич-варианта твердофазного иммуноферментного анализа с использованием реактивов фирмы «BCM Diagnostics» для MMP-2, и фирмы «Bander Medsystems» для MMP-9.

При статистической обработке использовался однофакторный дисперсионный анализ (критерий Фишера). Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В слезной жидкости у пациентов с ПОУГ регистрируется достоверно повышенный уровень MMP-2 и MMP-9 по сравнению с группой контроля. Средний уровень MMP-2 в группе контроля составляет 2,58 нг/мл, у глаукомных больных от 4,14 до 4,24 нг/мл (табл. 1).

Средний уровень MMP-9 в группе контроля 63,1 нг/мл, а у больных ПОУГ от 129,0 до 158,4 нг/мл (табл. 1).

Таким образом, содержание MMP-2 в слезе у больных глаукомой выше, чем в контрольной группе, в 1,6 раза, а содержание MMP-9 в 2,6 раза ($p < 0,05$).

Таблица 1

Концентрация MMP-2 и MMP-9 у больных ПОУГ и в контрольной группе

Группы обследуемых	N=80	MMP-2 М±m, нг /мл	MMP-9 М±m, нг /мл
Контроль	12 (15%)	2,58±0,83	63,1±8,2
ПОУГ 1-я группа (I-II стадия)	8 31(38,8%)	4,17±0,56*	129,0±12,8*
2-я группа (II-III стадия)	2 23 (8,8%)	4,14±0,62*	158,4 ±18,8*
3-я группа (III-IV стадия)	14 (17,8%)	4,42±1,37*	155,4± 20,7*

* - достоверность показателей групп пациентов с контролем

У больных с далекозашедшей и терминальной стадиями заболевания концентрация MMP-9 достоверно выше, чем у пациентов с начальной и развитой стадиями глаукомы ($p=0,03$), чего нельзя сказать об уровне MMP-2 в слезе у глаукомных больных: не были статистически значимыми различия концентраций MMP-2 между группами пациентов с ПОУГ ($p > 0,05$) (рис. 1, 2).

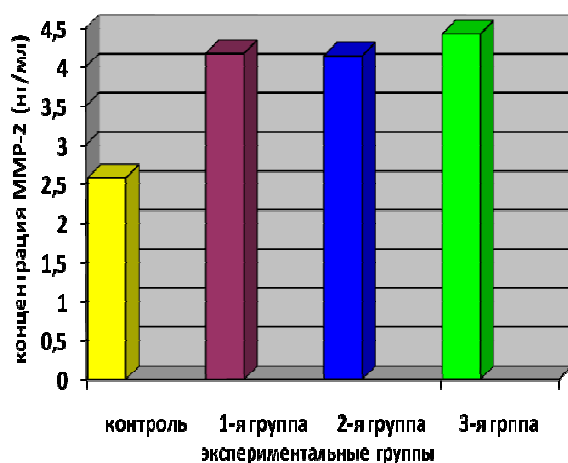


Рис. 1. Уровень MMP-2 у больных с ПОУГ и в группе контроля

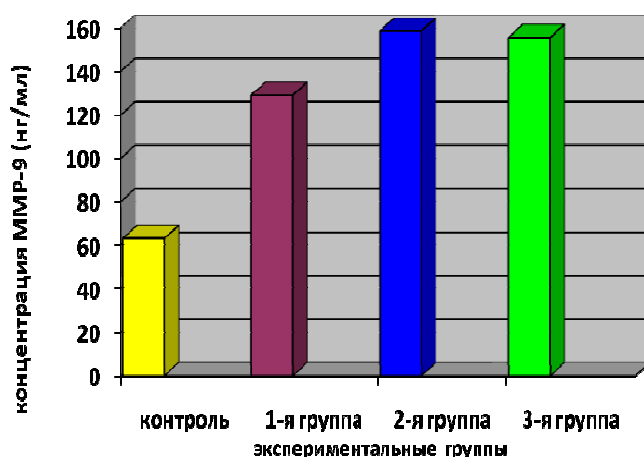


Рис. 2. Уровень MMP-9 у больных с ПОУГ и в группе контроля

Результаты нашего исследования, достоверное увеличение концентрации MMP-2 и MMP-9 в слезе у больных ПОУГ по сравнению с группой контроля дают основание утверждать: увеличение содержания этих ферментов в слезной жидкости может свидетельствовать о наличии заболевания.

Особой ценностью данного исследования является то, что уровень и MMP-2, и уровень MMP-9 значительно выше в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ уже на начальной стадии патологического процесса ($p=0,002$ и $p=0,000004$).

По результатам нашей работы концентрация MMP-2 в слезе у больных с I-II стадией ПОУГ почти в 2 раза превышает эту концентрацию в слезе у группы контроля, а уровень MMP-9 почти в 3 раза.

Достоинством этого, достаточно простого, неинвазивного способа диагностики является то, что он позволяет распознать ПОУГ в начале заболевания, когда еще отсутствуют специфические изменения или эти изменения незначительны.

Кроме того, обеспечивается исключение элементов субъективности при интерпретации результатов обследования.

Обсуждаемый способ диагностики может использоваться в качестве скринингового метода диагностики ПОУГ.

Лиц, предрасположенных к глаукоме, следует выявлять на самых ранних стадиях развития. Классические признаки ПОУГ (высокое ВГД, изменения периферического зрения, глаукоматозная экскавация ДЗН), к сожалению, возникают уже при необратимом повреждении зрительного нерва. Таким образом, биомаркеры, в качестве которых могут выступать MMP-2 и MMP-9, будут иметь важное значение для ранней диагностики ПОУГ.

Изучение матриксных металлопротеиназ и их регуляторов в этиологии ПОУГ определяет дальнейшее направление исследований, которые могут внести вклад в разработку новых методов не только диагностики, но и терапевтического лечения.

Важная роль в деградации внеклеточного матрикса под действием матриксных металлопротеиназ делает актуальной проблему эффективной антиглаукомной терапии и поиск специфических ингибиторов металлопротеиназ.

Выводы

1. Выявлено достоверное повышенное содержание MMP-2 и MMP-9 в слезе у больных ПОУГ уже на начальной стадии патологического процесса. Это дает возможность использовать показатели уровней MMP-2 и MMP-9 в качестве маркеров данного заболевания для ранней диагностики.
2. В ходе нашего исследования выявлена зависимость между уровнем MMP-9 и стадией заболевания: концентрация MMP-9 у больных с начальной и развитой стадиями глаукомы достоверно ниже, чем у больных с далеко зашедшей и терминальной стадиями болезни ($p=0,03$). Таким образом, концентрация MMP-9 в слезной жидкости может служить критерием прогрессирования ПОУГ.
3. Выявлено отсутствие зависимости концентрации MMP-2 и стадии патологического процесса: не были статистически значимыми различия концентраций MMP-2 между группами пациентов с ПОУГ ($p>0,05$).
4. Экспрессия MMP-9 в слезной жидкости имеет более информативный характер по сравнению с MMP-2.

Список литературы

1. Рукина Д.А. Значение матриксной металлопротеиназы в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы / Д.А. Рукина, А.В. Кириенко // Оригинальные исследования. - 2011. - № 3. - С. 41-43.
2. Hernandez M. The optic nerve head in glaucoma: Role of astrocytes in tissue remodeling // Prog Retin Eye Res. - 2000. - Vol. 19. - P. 297–321.
3. Increased expression of matrix metalloproteinases in mononuclear blood cells of normal-tension glaucoma patients / O. Golubnitschaja [et al.] // J. Glaucoma. – 2004. – Vol. 13. – P. 66-72.
4. Kowalski M. Matrix metalloproteinases (MMPs): modern molecular markers of open-angle glaucoma diagnosis and therapy / M. Kowalski, A. Walczak, I. Majsterek // Postepy Hig Med Dosw (Online). - 2008. - Vol. 62. - P. 582-592.
5. Manabe S. Activation of matrix metalloproteinase-9 via neuronal nitric oxide synthase contributes to NMDA-induced retinal ganglion cell death / S. Manabe, Z. Gu, S.A. Lipton // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2005. – Vol. 46. – P. 4747-4753.
6. Matrix metalloproteinases and tumor necrosis factor alpha in glaucomatous optic nerve head / X.Yan [et al.] // Arch Ophthalmol. - 2000. - Vol. 118. - P. 666–673.
7. Nagase H. Matrix metalloproteinases / H. Nagase, J.F. Woessner // J Biol Chem. - 1999. - Vol. 274. - P. 21491-21494.
8. Ronkoo S. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patient with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma / S. Ronkoo, P. Rekonen, K. Kaarnirata // Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophtalmology. - 2007. - Vol. 245. - P. 697-700.
9. Wang H. Vascular endothelial growth factor upregulates the expression of matrix metalloproteinases in vascular smooth muscle cells / H. Wang, J.A. Keiser // Circ. Res. - 1998. - Vol. 83. - P. 832–840.

Рецензенты:

Страхов В.В., д.м.н., профессор, зав. кафедрой офтальмологии ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия», г. Ярославль.

Деев Л.А., д.м.н., профессор, зав. кафедрой глазных болезней ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия», г. Смоленск.