

Received: 2008.03.13
Accepted: 2008.10.03
Published: 2008.10.31

Metaloproteinazy macierzowe (MMPs) – nowoczesne markery molekularne do prognozowania i terapii jaskry otwartego kąta

Matrix metalloproteinases (MMPs): Modern molecular markers of open-angle glaucoma diagnosis and therapy

Michał Kowalski¹, Anna Walczak², Ireneusz Majsterek^{2,3}

¹ Niepubliczny Zakład Opieki Zdrowotnej „Sal-Med” Łódź

² Katedra Genetyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki

³ Zakład Chronofarmakologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Jaskra jest jedną z najpoważniejszych chorób cywilizacyjnych prowadzących do nieuleczalnej utraty wzroku. Mimo wielu lat badań przyczyny tego schorzenia nadal pozostają niepewne. Ogromną trudność stanowi jej zdiagnozowanie, ze względu na to, iż początkowa faza ma charakter bezobjawowy. Po wielu poszukiwaniach duże nadzieje zaczęto wiązać z metaloproteinazami – enzymami proteolitycznymi, których udział udowodniono w patogenezie wielu odmian jaskry. Ich nadekspresja prowadzi do degradacji komponentów macierzy zewnątrzkomórkowej, co powoduje uszkodzenie tkanek oka oraz zmianę ich właściwości. Powstające w ten sposób zaburzenia strukturalne są jednymi z głównych przyczyn postępującej neuropatii jaskrowej. Obecność w tkankach oka osób chorych na jaskrę otwartego kąta zmienionej ekspresji MMP-1, -2, -3, -7, -9 i -12 oraz ich tkankowych inhibitorów TIMP-1 i -2 otworzyła nowe metody diagnozowania i leczenia tej choroby. Wykrycie polimorfizmów czy mutacji w obrębie genów kodujących te enzymy pozwoli na zakwalifikowanie pacjenta do grupy ryzyka, a u osób, które już zachorowały regulacja aktywności metaloproteinaz stanie się częścią postępowania terapeutycznego. W pracy omówiono występowanie i funkcję poszczególnych rodzajów metaloproteinaz w jaskrze otwartego kąta, a także możliwości leczenia tego schorzenia poprzez regulację MMPs.

Słowa kluczowe:

jaskra • metaloproteinazy macierzowe • markery

Summary

Glaucoma is one of the most important civilization diseases and leads to irreversible blindness. In spite of many years of research, the causes of this disorder remain unclear. This disease is extremely difficult to diagnose because its primary phase is asymptomatic. After laborious research it has been discovered that metalloproteinases, i.e. proteolytic enzymes involved in the pathogenesis of many kinds of glaucoma, are crucial in glaucoma diagnosis. The overexpression of matrixins leads to degradation of extracellular matrix components, which results in eye tissue injury and changes of tissue properties. Structural disorders occurring in this way are one of the many key reasons for progressive glaucomatous optic neuropathy. The presence of altered expressions of MMP-1, -2, -3, -7, -9, and -12 and their tissue inhibitors TIMP-1 and -2 in the glaucomatous eye paves new ways for the diagnosis and treatment of open-angle glaucoma. The detection of polymorphisms and mutations in genes encoding these enzymes will allow qualifying a patient to a risk group and people who are already ill may be treated by regulation of metalloproteina-

ses activity. This review focuses on the presence and function of metalloproteinases in open-angle glaucoma and on treatment possibilities through MMP regulation.

Key words: glaucoma • matrix metalloproteinases • marker

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=871216>

Word count: 4255

Tables: 2

Figures: 2

References: 89

Adres autora: prof. nadzw. dr hab. Ireneusz Majsterek; Katedra Genetyki Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź; e-mail: imajst@biol.uni.lodz.pl

Wykaz skrótów: **BFGF** – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (basic fibroblast growth factor); **BM-40** – osteonektyna (basement-membrane protein 40); **CTGF** – czynnik wzrostu tkanki łącznej (connective tissue growth factor); **IGF1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1); **IGFBP-3** – białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 3 (insulin-like growth factor-binding protein 3); **IGFBP-5** – białko wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 5 (insulin-like growth factor-binding protein 5); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyńowego (vascular endothelial growth factor).

1. WSTĘP

Jaskra jest drugą pod względem występowania przyczyną nieodwracalnej utraty wzroku (po zaćmie). Według WHO wśród ludzi niewidzących jest ona powodem ślepoty u 12,3% [66].

Chociaż na temat epidemiologii jaskry w Polsce nie ma pełnych danych, to szacuje się, że w naszym kraju na tę chorobę cierpi prawie 700 tys. ludzi. W 2004 r. wśród mieszkańców Wrocławia przeprowadzono badania, które udowodniły, że najczęściej występującą postacią jaskry jest jaskra pierwotna otwartego kąta (JPOK) – na 1,6% ogólnego występowania jaskry 1,0% stanowiły przypadki JPOK [56]. Jednocześnie stwierdzono, że aż u 71% pacjentów jaskra nie została wcześniej zdiagnozowana.

Dokładne przyczyny występowania jaskry pierwotnej nie są znane. U jej molekularnych podstaw leżą zaburzenia w obrębie macierzy zewnątrzkomórkowej tworzącej sieci beleczkowania kąta przesączania. Zaburzenia te są najczęściej związane z nadmierną syntezą składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) oraz zmianami aktywności enzymów proteolitycznych modyfikujących ECM – metaloproteinaz macierzowych (matryksyn, MMPs) oraz ich tkankowych inhibitorów (TIMPs).

2. RODZAJE JASKRY

Jaskra (glaucoma) należy do grupy chorób, których istotą jest swoista, postępująca neuropatia nerwu wzrokowego. Patologia ta spowodowana jest zaburzeniami ciśnienia w gałce ocznej, powodującymi uszkodzenie nerwu wzrokowego. Prowadzi do charakterystycznych zmian w odcinku wewnątrzgałkowym nerwu wzrokowego: zawężania pola widzenia, a w końcowej fazie – do całkowitej utraty wzroku.

Jaskra obejmuje wiele rodzajów schorzeń mających różne przyczyny i objawy [22]; można ją podzielić na dwa główne typy – **pierwotną i wtórną**.

Jaskra pierwotna jest chorobą obuoczną, najczęściej niesymetryczną, uwarunkowaną genetycznie. Charakteryzuje się nieprawidłową budową kąta przesączania, która nie jest skutkiem innego procesu chorobowego. Ostre napady jaskry, dość często występujące u osób poddanych silnemu stresowi (silne stany emocjonalne, wzruszenia czy zdenerwowanie) świadczą o tym, że na przebieg tej choroby wpływa wzmożone napięcie układu nerwowego. Jaskrę pierwotną można podzielić na:

- jaskrę z otwartym kątem przesączania, tzw. jaskrę prostą,
- jaskrę z zamkniętym kątem przesączania [21], którą dzieli się na jaskrę ostrą, podostrą i przewlekłą,
- jaskrę mieszaną, będącą połączeniem jaskry otwartego i zamkniętego kąta [34],
- jaskrę dziecięcą (wrodzoną) [31].

O jaskrze wtórnej mówi się wówczas, gdy zamknięcie kąta przesączania lub zablokowanie źrenicy powstało wskutek przewlekłego schorzenia gałki ocznej, przewlekłych chorób przebiegających ze zmianami w naczyniach krwionośnych, urazu mechanicznego lub operacyjnego, zmieniającego stosunki anatomiczne w gałce ocznej [22]. Wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego jest spowodowany wówczas zablokowaniem kąta przesączania – wysiękiem zapalnym w przednim odcinku gałki ocznej. Wśród rodzajów jaskry wtórnej można wyróżnić:

- jaskrę z otwartym kątem przesączania, do której należą: jaskra torebkowa (jaskra w przebiegu zespołu rzekomego złuszczenia torby soczewki), jaskra barwnikowa, jaskra pourazowa i jaskra indukowana steroidami,
- jaskrę z zamkniętym kątem przesączania: neowaskularna, jaskra i stan zapalny, pourazowa, jaskra połączona ze zmianami w soczewce,
- jaskrę dziecięcą (wrodzoną).

2.1. Optyczna neuropatia jaskrowa (GON)

Jaskra jest chorobą o charakterze neurodegeneracyjnym. Zmiany w obrębie nerwu wzrokowego dotyczą głównie komórek zwojowych i warstwy włókien nerwowych siatkówki. W wyniku ich postępującego procesu zanikowego dochodzi do charakterystycznych zmian w obrębie tarczy nerwu wzrokowego – powiększenia fizjologicznego zagłębienia w tarczy i zmniejszenia pierścienia nerwowo-siatkówkowego. Występują także zmiany w obrębie obszaru przytarczowego.

Do uszkodzenia komórek nerwowych w oku dochodzi z różnych przyczyn: niedoboru czynników wzrostu, syntezy wolnych rodników czy zaburzeń w metabolizmie wapnia, a ich skutkiem jest apoptoza, czyli genetycznie zaprogramowana i kontrolowana śmierć komórki [8,9].

Wysunięto dwie teorie określające przyczyny obumierania komórek zwojowych siatkówki w jaskrze: **ischemiczna i mechaniczna**.

Pierwsza z teorii głosi, iż przyczyną jaskry mogą być zaburzenia mikrokrążenia w oku w przedniej części nerwu wzrokowego, wokół tarczy nerwu wzrokowego [37], w naczyńcówce [27], a także zaburzenia w unaczynieniu pozagałkowym [23]. Niedokrwienie powoduje niedobór utlenowanej glukozy, co prowadzi do zahamowania transportu aksoplazmy w komórkach nerwowych, a tym samym do zaburzenia transportu neurotrofin – czynników regulujących wzrost i funkcjonowanie komórek nerwowych [61]. Zmiany w krążeniu krwi w oku prowadzą także do dysfunkcji naczyniowych mechanizmów regulujących, m.in. wzrostu stężenia endoteliny 1 (ET-1) w osoczu i w cieczy wodnistej [38,57]. ET-1 jest białkiem powodującym skurcz naczyń krwionośnych, co dodatkowo ogranicza mikrokrążenie w obrębie nerwu wzrokowego, czego skutkiem jest jego zanik.

W teorii mechanicznej jako przyczynę neuropatii jaskrowej podaje się nacisk cieczy wodnistej na blaszkę sitową nerwu wzrokowego. Napór powoduje odkształcenie tej blaszki i struktur ją wspierających oraz deformację kanalików laminarnych. Przyczyną może być też mechaniczne uszkodzenie neuronów i utrudnienia w transporcie aksoplazmy [63]. Podobnie jak w przypadku niedokrwienia, a skutkiem tych zjawisk jest apoptoza komórek nerwowych.

Niedokrwienie, nacisk mechaniczny, czy też inne urazy mogą doprowadzić do nieswoistej odpowiedzi na stres, jaką jest aktywacja komórek glejowych. W nerwie wzrokowym ważnymi przedstawicielami tej grupy są astrocyty i komórki Müllera. Ich aktywacja prowadzi do zmian w ekspresji genów, a co za tym idzie do zmian w morfologii i podziałach komórek. Aktywne komórki glejowe wytwarzają wiele związków, takich jak syntetazę tlenu azotu (NOS-2) [50], cyklooksygenazę (COX-2) [4], czynnik martwicy nowotworów (TNF- α), transformujący czynnik wzrostu (TGF- β 2) [76], metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej i inne mediatory, których działanie powoduje remodeling tkanki.

2.2. Jaskra pierwotna otwartego kąta

Jaskra pierwotna otwartego kąta (primary open angle glaucoma – POAG) jest najczęściej występującą postacią neuropatii jaskrowej [56]. Podwyższone ryzyko zachorowa-

nia na POAG stwierdzono u osób rasy białej powyżej 65 roku życia. Ustalono też znacznie częstsze występowanie tej choroby u osób rasy czarnej, przy czym bariera wiekowa obniża się tu do 40 lat. Inne czynniki ryzyka to występowanie zachorowań na jaskrę w rodzinie, cukrzyca, ostra krótkowzroczność, mniejsza grubość centralnej rogówki i niskie ciśnienie tętnicze (często będące skutkiem nadmiernego leczenia nadciśnienia).

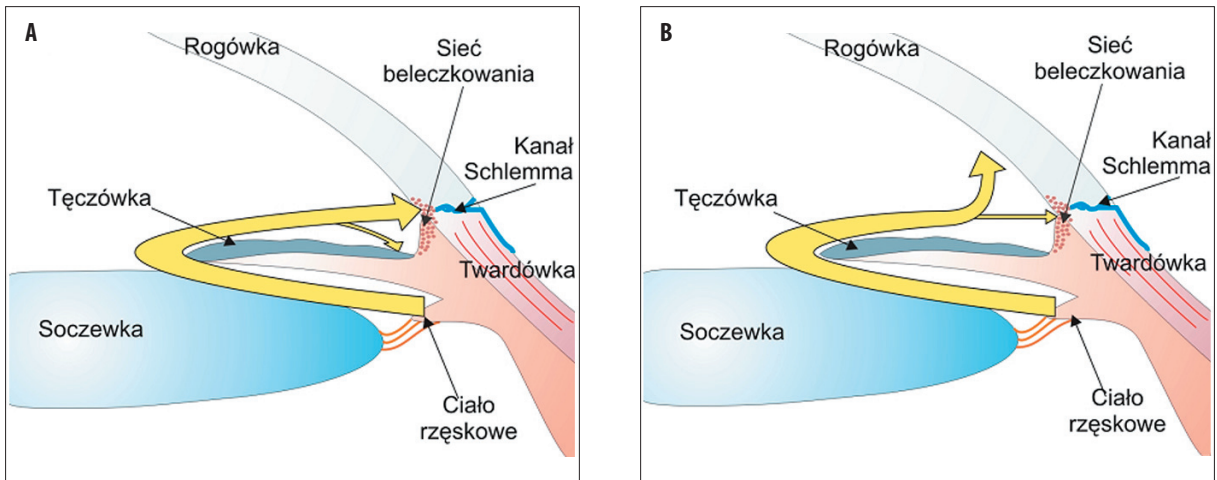
Jaskrze pierwotnej otwartego kąta często towarzyszy podwyższenie ciśnienia wewnątrzgałkowego na skutek utrudnienia wypływu cieczy wodnistej (humor aquosus). Ciecz wodnista jest wytwarzana w wyrostkach rzęskowych wchodzącym w skład ciała rzęskowego i wypełnia komory oka w przedniej jego części. Odpowiada ona za utrzymanie prawidłowego ciśnienia wewnątrz gałki ocznej, co pozwala na zachowanie odpowiedniego dla niej kształtu. Ciecz wodnista zawiera także substancje odżywiające nieunaczynione tkanki oka, zwłaszcza rogówkę i soczewkę.

Nadmiar cieczy wodnistej jest odprowadzany dwiema drogami. Główną drogą jest tzw. kąt tęczówkowo-rogówkowy (kąt przesączania), skąd płyn przechodzi do kanału Schlemma i dalej do żył wodnych. Alternatywnie ciecz wodnista przechodzi drogą twardówkowo-naczyniówkową kolejno przez kryptę tęczówki, mięśnie wyrostka rzęskowego, przestrzeń nadnaczyniówkową i twardówkę do przestrzeni podspojówkowej (ryc. 1). W ten sposób z oka jest odprowadzane około 25% tego płynu [72]. Zablockowanie dróg odpływu powoduje wzrost ciśnienia śródgałkowego ponad wartość prawidłową (11–21 mmHg). Dziś wiemy, że jest to ważny, ale nie decydujący czynnik wywołujący neuropatię jaskrową. U niektórych chorych jaskra przebiega bez podwyższonego ciśnienia wewnątrzgałkowego (w tzw. jaskrze prawidłowego ciśnienia) lub wprost przeciwnie – może występować nadciśnienie oczne niepowodujące jaskry.

Kąt przesączania jest utworzony przez sieć beleczkowania. Jest ona zbudowana z trzech warstw: wewnętrznej sieci błony naczyniowej oka, głębszej sieci rogówkowo-twardówkowej i tkanki przykanalikowej, która sąsiaduje z wewnętrzną ścianą śródbłonka kanału Schlemma. Elementy te, budowane przez elementy macierzy zewnątrzkomórkowej, tworzą silnie porowatą strukturę, dzięki czemu ciecz wodnista może przez nią swobodnie przepływać. Badania wykazały, że części naczyniówkowa i rogówkowo-twardówkowa nie biorą udziału w zaburzeniach odpływu cieczy wodnistej z oka [74]. Zasadniczą rolę odgrywa tu tkanka okołoprzewodowa. Jej komórki tworzą liczne wypustki, które łącząc się ze sobą, a także ze śródbłonkiem kanału Schlemma oraz elementami macierzy zewnątrzkomórkowej tworzą gęstą sieć, tzw. rejon wewnętrznej ściany (inner wall region). Okazało się jednak, że zaburzenia w tej strukturze stanowią tylko niewielką część przyczyn utrudnień w odpływie cieczy wodnistej. Badania dowiodły, że zasadniczą rolę w tym procesie odgrywa nadmierna synteza macierzy zewnątrzkomórkowej i jej przekształcenia, w których uczestniczą metaloproteiny macierzowe.

3. METALOPROTEINAZY MACIERZOWE

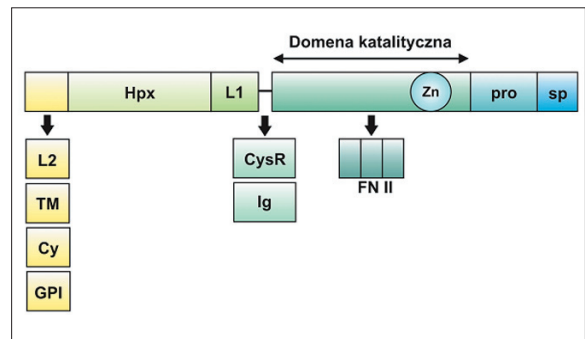
Macierz zewnątrzkomórkowa (matriks zewnątrzkomórkowa – ECM) tworzona jest przez sieć różnorodnych związków (białek i polisacharydów) wypełniających przestrzeń



Ryc. 1. Drogi odpływu cieczy wodnistej; A – oko zdrowe; B – oko z jaskrą otwartego kąta

międzykomórkową w tkankach. Spełnia w organizmie funkcje regulacyjne i strukturalne, nadaje tkankom odpowiednie właściwości fizyczne. Degradacja macierzy zewnątrzkomórkowej jest ważnym procesem fizjologicznym. Zmiany w obrębie ECM towarzyszą m.in. embriogenezie [11], angiogenezie [12], rozwojowi kości i szkliwa zębów [32], cyklowi reprodukcyjnemu [10] oraz gojeniu się ran (nawet przy uszkodzeniach rdzenia kręgowego [33]). To przekształcanie macierzy zewnątrzkomórkowej jest prowadzone z udziałem metaloproteinaz. Enzymy te biorą także udział w procesach niezwiązanych z przebudową matriksu, takich jak agregacja płytek [36] oraz własności wazoaktywne naczyń krwionośnych [3]. MMPs warunkują przebudowę endometrium w czasie cyklu miesięcznego, podczas ciąży, porodu i połogu [47]. Oprócz udziału w procesach fizjologicznych, metaloproteinazy mogą również odgrywać ważną rolę w etiologii chorób nowotworowych [13], miażdżycy [55], chorobach skóry [14] czy zapaleniu stawów [60,77].

Czym właściwie są metaloproteinazy macierzowe? MMPs są to zewnątrzkomórkowe lub błonowe enzymy trawiące składniki macierzy zewnątrzkomórkowej. Biorą one udział w utrzymaniu właściwej struktury szkieletu ECM. Metaloproteinazy macierzy mają charakter endopeptydaz aktywnych w pH obojętnym lub lekko zasadowym w obecności jonów Ca^{2+} . Enzymy te charakteryzują się budową domenową (ryc. 2). Ich struktura może wykazywać pewne różnice w zależności od rodzaju metaloproteinazy. Wszystkie MMPs bezpośrednio po zsyntetyzowaniu są utrzymywane w postaci nieaktywnych proenzymów dzięki obecności propeptydu. O ich sekrecji i transporcie poza obręb komórki decyduje sekwencja sygnałowa. Po wydzieleniu MMPs do macierzy zewnątrzkomórkowej ulega ona degradacji. Centralne miejsce w metaloproteinazach zajmują dwie domeny: katalityczna i hemopeksynowa połączone strukturą tworzącą tzw. „elastyczny łącznik” [44]. W obrębie domeny katalitycznej odpowiedzialnej za aktywność proteolityczną MMPs, znajduje centralnie położony atom cynku połączony koordynacyjnie z trzema resztami histydyny. W metaloproteinazach transbłonowych występuje ponadto dodatkowa domena transbłonowa odpowiedzialna za utrzymanie enzymu w strukturze błony komórkowej.



Ryc. 2. Budowa domenowa metaloproteinaz macierzowych; L1, L2 – fragmenty łącznikowe; TM – domena transmembranowa; Cy – ogon cytoplazmatyczny; GPI – glikozylofosfatydylinozylol; Hpx – domena hemopeksynowa; CysR – domena bogata w reszty cysteiny; Ig – domena immunoglobulinowa; FNII – trzykrotnie powtórzony motyw fibronektyny typu II; Zn – atom cynku; pro – propeptyd; sp – peptyd sygnałowy

Dotąd odkryto 25 metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej, z czego 23 występują u człowieka. Są to enzymy o bardzo różnorodnej swoistości substratowej. MMPs uczestniczą w reakcjach obejmujących procesy degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej oraz błony podstawnej i ich komponentów [70], ale mogą także pełnić inne funkcje (tabela 1).

Metaloproteinazy macierzy są wydzielane przez komórki tkanki łącznej (m.in. fibroblasty) [82], komórki hemopetyczne (monocyty [78,87], makrofagi [87], limfocyty [24], granulocyty i płytki krwi [20]), komórki śródbłonna [75], hepatocyty [58] oraz komórki nowotworowe [84].

4. TKANKOWE INHIBITORY METALOPROTEINAZ MACIERZOWYCH

Proteolityczna aktywność matriksyn jest regulowana przez inhibitory proteaz, które obejmują dwie grupy: inhibitory występujące w osoczu i innych płynach ustrojowych oraz działające w obrębie tkanek TIMPs. Do tej pory u kręgowców odkryto 4 rodzaje tkankowych inhibitorów metaloproteinaz oznaczonych jako TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 i TIMP-4, przy czym należy podkreślić, że TIMP-3 jest również inhibitorem adamalizyn.

Tabela 1. Charakterystyka metaloproteinaz macierzowych zaangażowanych w jaskrę otwartego kąta (według [53] – zmodyfikowano)

| Metaloproteinazy macierzy | Lokalizacja chromosomowa | Masa cząsteczkowa [kDa] | Modyfikowany substrat | Rola/efekt biologiczny |
|--|--------------------------|-------------------------|---|--|
| MMP-1 (kolagenaza 1) | 11q22-q23 | 52 | kolagen typu I fibronektyna kolagen typu XVIII IGFBP-3 IGFBP-5 CTGF | migracja keranocytów i reepitelializacja migracja komórek agregacja płytek tworzenie fragmentu podobnego do endostatyny wzrost dostępności IGF1 i proliferacja komórek aktywacja VEGF |
| MMP-2 (żelatynaza A) | 16q13 | 72 | siarczan chondroityny fibronektyna kolagen typu XVIII BM-40 IGFBP-3 IGFBP-5 CTGF | wzrost aksonów migracja komórek różnicowanie komórek mezenchymalnych z fenotypem zapalnym tworzenie fragmentu podobnego do endostatyny zwiększenie powinowactwa do kolagenu wzrost dostępności IGF1 i proliferacja komórek aktywacja VEGF |
| MMP-3 (stromielizyna 1) | 11q23 | 55 | fibronektyna błona podstawna E-kadheryna plazminogen kolagen typu XVIII BM-40 perlekan IGFBP-3 IGFBP-5 CTG | migracja komórek apoptoza komórek nabłonka sutka formowanie pęcherzyków nabłonka sutka konwersja nabłonkowo-mezenchymalna tworzenie fragmentu podobnego do angiostatyny tworzenie fragmentu podobnego do endostatyny zwiększenie powinowactwa do kolagenu uwolnienie bFGF wzrost dostępności IGF1 i proliferacja komórek aktywacja VEGF |
| MMP-7 (matrylizyna 1) | 11q21-q22 | 28 | fibronektyna plazminogen kolagen typu XVIII BM-40 IGFBP-5 CTGF | różnicowanie adipocytów tworzenie fragmentu podobnego do angiostatyny tworzenie fragmentu podobnego do endostatyny zwiększenie powinowactwa do kolagenu wzrost dostępności IGF1 i proliferacja komórek aktywacja VEGF |
| MMP-9 (żelatynaza B) | 20q11.2-q13.1 | 92 | plazminogen kolagen typu XVIII BM-40 IGFBP-5 CTGF | tworzenie fragmentu podobnego do angiostatyny tworzenie fragmentu podobnego do endostatyny zwiększenie powinowactwa do kolagenu wzrost dostępności IGF1 i proliferacja komórek aktywacja VEGF |
| MMP-12 (elastaza makrocząsteczkowa) | 11q22.2-q22.3 | 54 | plazminogen kolagen typu XVIII IGFBP-5 CTG | tworzenie fragmentu podobnego do angiostatyny tworzenie fragmentu podobnego do endostatyny wzrost dostępności IGF1 i proliferacja komórek aktywacja VEGF |

Tkankowe inhibitory metaloproteinaz wpływają hamująco nie tylko na aktywność MMPs. Istnieje grupa enzymów o podobnej strukturze do metaloproteinaz – adamalizyny (ADAM), które odgrywają ważną rolę w oddziałyvaniach międzykomórkowych, takich jak fuzja, czy adhezja. Przykładem jest TIMP-3, który jak wykazano znacznie efektywniej hamuje aktywność adamalizyn niż metaloproteinaz [62,89].

Geny kodujące tkankowe inhibitory metaloproteinaz są rozmieszczone odpowiednio na chromosomach X Xp11.3 – Xp11.23 [15], 17q25 [16], 22q12.1-q13.2 [17] oraz 3p25 [18]. TIMPs funkcjonują jako ważne czynniki hamujące zaburzone działanie metaloproteinaz macierzowych

w procesach patologicznych. Tkankowe inhibitory metaloproteinaz macierzowych to białka o m.c. 21–29 kDa [79] zawierające dwie domeny: C-terminalną, wpływającą na połączenie TIMPs z fragmentem podobnym do hemopeksyny metaloproteinaz oraz silnie zakonserwowaną ewolucyjnie domenę N-terminalną odpowiedzialną za inhibicję MMPs.

Tkankowe inhibitory metaloproteinaz macierzowych działają na zasadzie klina, który wpasowuje się w szczelinę w miejscu aktywnym matryksyny w sposób podobny do substratu. TIMP niekowalencyjnie wiąże się z cząsteczką MMP w stosunku molowym 1: 1. Domena N-terminalna TIMP poprzez grupę aminową chelatuje atom cynku i usu-

wa związaną z nim cząsteczkę wody, a grupa karboksylowa N-końcowej cysteiny wiąże się dodatkowo z cynkiem blokując aktywność całego enzymu MMP [80]. Oprócz inaktywacji aktywnych MMPs, TIMPs biorą także udział w blokowaniu przekształcania proMMPs w aktywne metaloproteiny macierzowe.

Tkankowe inhibitory, wbrew swojej nazwie, mogą również aktywować metaloproteiny przez oddziaływanie swoją domeną C-terminalną z domeną homopeksynową, jak to się dzieje w przypadku proMMP2. TIMP-2 tworzy z obecną na błonie komórkowej MT1-MMP kompleks, do którego przyłącza się prometaloproteinaza 2. Obecna w bliskim sąsiedztwie druga cząstka MT1-MMP powoduje aktywację powstałego kompleksu i oddysocjowanie od proMMP-2 sekwencji peptydowej, czego wynikiem jest powstanie w pełni funkcjonalnej postaci MMP-2. Obecność tkankowego inhibitora metaloproteinaz macierzowych 2 do aktywacji tego enzymu wykazano m.in. w badaniach nad myszami z mutacją w genie *Timp2* [83].

Tkankowe inhibitory metaloproteinaz są molekułami wielofunkcyjnymi. Oprócz utrzymywania równowagi między syntezą a degradacją struktur macierzy zewnątrzkomórkowej pełnią także inne funkcje biologiczne. TIMP-1 i TIMP-2 mają aktywność czynników pobudzających wzrost komórek różnego typu, pobudzają komórki progenitorowe hematopoezy (EPA) [7,71]. TIMP-1, TIMP-2 oraz TIMP-3 biorą udział w redukcji wzrostu guza w procesach nowotworzenia [5,19,48]. Ponadto TIMP-2 może ograniczać wzrost komórek śródbłonna [54]. Tkankowe inhibitory metaloproteinaz biorą także udział w regulacji procesu apoptozy. Dowiedziono, że TIMP-3 ma aktywność proapoptotyczną [2], w przeciwieństwie do TIMP-1 i TIMP-2, które działają antyapoptotycznie [40,45]. TIMPs biorą także udział w interakcjach immunologicznych (w limfocytach B i T wykazano ekspresję odpowiednio TIMP-1 i TIMP-2 [59]).

5. AKTYWACJA METALOPROTEINAZ MACIERZOWYCH

Aktywność metaloproteinaz w warunkach fizjologicznych jest regulowana na 4 głównych poziomach: transkrypcji genów, aktywacji proenzymów, inaktywacji poprzez inhibitory oraz przez ich kompartmentalizację.

Badania dowiodły, że regulacja MMPs na poziomie transkrypcji zachodzi z udziałem wielu czynników. Wydzielanie metaloproteinaz stymulują m.in. czynnik martwicy nowotworu α (TNF- α) [41], śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF) [42,81], interleukinę 1 (IL-1) [49] prostaglandyny (PGE₂ [86], PGF_{2 α} [67]) oraz onkogeny. Wpływają one na ekspresję genów *fas* i *jun*, których produkty tworzą czynniki transkrypcyjne AP-1. Czynniki te łączą się z określoną sekwencją DNA w rejonie promotorowym stymulując transkrypcję genu metaloproteiny [72].

Inhibitorami wydzielania MMPs na poziomie transkrypcji (oprócz wcześniej omówionych tkankowych inhibitorów metaloproteinaz TIMPs) są zaś transformujący czynnik wzrostu β (TGF- β) oraz hormony steroidowe [6]. Niektóre komórki (zarówno prawidłowe, jak i patologiczne) wydzielają również czynnik indukujący metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej (EMMPRIN) stymulujący fibroblasty do wydzielania MMPs [88].

Metaloproteiny są wydzielane w postaci nieaktywnych preproenzymów, które ulegają aktywacji przez odcięcie sekwencji peptydu regulatorowego podczas translacji. Większość MMP jest aktywowana poza komórką, ale istnieją matryksyny aktywowane wewnątrzkomórkowo. Są to: MMP-11, MMP-23, MMP-28 oraz wszystkie metaloproteiny transbłonowe (MT-1MMP, MT-2MMP, MT-3MMP, MT-4MMP, MT-5MMP, MT-6MMP). Między domeną propeptydu i domeną katalityczną mają one furynopodobną sekwencję RX[K/R]R rozpoznawaną przez konwertazy propeptyny lub furyny [53,80]. W wyniku działania tych serynowych proteaz metaloproteiny macierzy ulegają aktywacji wewnątrzkomórkowej i są wydzielane lub wiązane z błoną komórkową w postaci aktywnej.

Pozostałe enzymy po docięciu sekwencji sygnałowej są wydzielane z komórki w postaci zymogenu jako proMMP. Prometaloproteiny macierzy (z wyjątkiem MMP-23) w domenie propeptydu zawierają zakonserwowaną ewolucyjnie sekwencję aminokwasów PRCXXPD. Obecna tu cysteina łączy się wiązaniem koordynacyjnym (poprzez grupę -SH) z atomem cynku obecnym w domenie katalitycznej, hamując aktywność całego enzymu. W wyniku procesu zwanego „cysteine switch” połączenie Cys-Zn²⁺ zostaje zerwane, grupa tiolowa cysteiny zostaje zastąpiona cząsteczką wody, a konformacja całej cząsteczki ulega zmianie. W końcowej fazie aktywacji dochodzi do odszczepienia sekwencji propeptydu proteolitycznie lub autokatalitycznie i odsłonięcia centrum aktywnego enzymu [53,73,80].

Na aktywację proMMP wpływają takie czynniki jak plazmina [65], związki nieorganiczne oraz związki organiczne zawierające rtęć (np. octan 4-aminofenylortęciowy), jony metali ciężkich, detergenty (np. siarczan docycylu sodu) czy stres oksydacyjny. Nieaktywne matryksyny mogą też ulegać aktywacji pod wpływem aktywnych enzymów tej rodziny lub z udziałem TIMPs.

Inhibicja aktywnych metaloproteinaz zachodzi z udziałem czynników różnego rodzaju. Najpowszechniejszymi z nich są opisane już wcześniej tkankowe inhibitory metaloproteinaz macierzowych. Oprócz nich aktywność hamującą działanie MMPs wykazują także endopeptydazy z rodziny α -makroglobulin. Przedstawicielem tej grupy jest α 2-makroglobulina. Jest to glikoproteina osoczowa, homotetramer o m.c. 725 kDa. Działanie α 2-makroglobuliny polega na uwięzieniu cząsteczki matryksyny wewnątrz własnej struktury, a następnie połączenie z receptorem pośredniczącym w endocytozie, który oczyszcza ten kompleks [53]. Innymi zidentyfikowanymi inhibitorami metaloproteinaz macierzy są m.in.: białko – enhancer C-terminalnego fragmentu C-proteiny prokolagenu [51], białko prekursorowe β -amyloidu [29], glikoproteina RECK [46] i inhibitor szlaku czynnika tkankowego 2 [28].

Regulacja aktywności metaloproteinaz przez kompartmentalizację opiera się na swoistości substratowej tych enzymów. Różne rodzaje metaloproteinaz wykazują odmienne powinowactwo do określonego rodzaju substratu. W środowisku, które zawiera dużo potencjalnych substratów, selektywność katalizy MMP (regulowana dodatkowo przez stężenie aktywnego enzymu) może być kierowana przez stężenie preferowanego substratu względem

innych substratów. Istnieje teoria, że metaloproteiny nie są uwalniane przez komórkę, ale raczej w pewien sposób zakotwiczone w błonie komórkowej, co powoduje lokalny wzrost stężenia enzymu i daje możliwość nakierowania jego aktywności katalitycznej na swoisty substrat położony w przestrzeni okołokomórkowej. Jednak dotąd nie potwierdzono to naukowo [64].

6. UDZIAŁ METALOPROTEINAZ MACIERZOWYCH I ICH REGULATORÓW W JASKRZE OTWARTEGO KĄTA

Jednym z ważniejszych aspektów patologii w obrębie narządu wzroku w jaskrze otwartego kąta jest przekształcenie (remodeling) tkanek, za który odpowiadają metaloproteiny macierzowe. Wyniki badań, w których porównywano poziom ekspresji MMP w tkankach oka pochodzących od chorych z jaskrą i poziom w tkankach prawidłowego narządu wzroku, sugerują udział matriksyn w etiologii tej choroby. W tkankach prawidłowego narządu wzroku wykazano ekspresję MMP-1, -2, -9, -12 oraz aktywującą pozostałe metaloproteiny MMP-3 i transbłonową MT1-MMP. Oprócz nich wykazano również obecność cytokin, neuroprzekazników i innych czynników regulujących aktywność metaloproteinaz. W indukcji ekspresji wymienionych MMP biorą udział cytokiny: działające aktywująco TNF- α i IL-1 oraz hamujący TGF- β . Regulacja aktywności tych enzymów jest regulowana przez inhibitory tkankowe TIMP-1 i TIMP-2. W przypadku jaskry pierwotnej oraz wtórnej kąta otwartego, a także zespołu rzekomego złuszczenia wykazano zaburzenia w ekspresji i aktywności MMP oraz czynników aktywujących ich ekspresję, a także zmiany w stosunku MMP do ich inhibitorów, co wpływa na aktywność proteolityczną w obrębie tkanek narządu wzroku.

W poszczególnych tkankach oka zaobserwowano różną aktywność metaloproteinaz i ich inhibitorów. Rolą metaloproteinaz macierzowych i ich inhibitorów w oku jest przede wszystkim udział w przebudowie sieci bełczkowania, która odpowiada za utrzymanie właściwego poziomu odpływu cieczy wodnistej z gałki ocznej. Badania immunohistochemiczne wykazały w sieci bełczkowej i wewnętrznej ścianie kanału Schlemma obecność MMP-2, TIMP-2 i TIMP-3. W tkankach osób chorych na jaskrę wykazano zwiększoną ilość MMP-1, -3, -9, TIMP-1, -2, -3 oraz znacznie mniejszą ekspresję MMP-2 w porównaniu z grupą kontrolną [68]. W badaniach cieczy wodnistej także wykryto znaczący spadek stężenia MMP-2 u osób chorych na jaskrę otwartego kąta [69]. Podobne doświadczenia przeprowadzono na pacjentach chorych na jaskrę z zespołem PEX. W ich cieczy wodnistej udowodniono niewielki wzrost aktywności MMP-9 oraz dwukrotnie większy poziom TIMP-1 [30]. Spadek ekspresji MMP-2 wskazuje na akumulację materiału macierzy zewnątrzkomórkowej, co może powodować zaburzenia w odprowadzaniu cieczy łożowej. MMP-3 poprzez przebudowę glikoprotein może bezpośrednio kontrolować poziom odpływu cieczy wodnistej oka, a tym samym powodować obniżenie ciśnienia śródgałkowego. Stymulacja wytwarzania MMP-3 przez interleukinę 1 może dodatkowo zwiększać ten efekt. Analiza nerwu wzrokowego wykazała niewielki wzrost ekspresji MMP-1, -2, -3 oraz TNF- α w cytoplazmie komórek glejowych [85]. Wzrost poziomu tych metaloproteinaz w obrębie nerwu wzrokowego, gdzie obecna jest znaczna ilość

swoistych dla tego enzymu substratów, powoduje degradację tych komponentów, czego skutkiem jest śmierć komórek glejowych. MMP-9 jest zaangażowana w proces degradacji lamininy na powierzchni komórek nerwowych, co w konsekwencji prowadzi do śmierci komórek zwojowych siatkówki. W regulację poziomu wydzielania oraz funkcjonowania metaloproteinaz obecnych w obrębie nerwu wzrokowego jest zaangażowany TNF- α . Jego wzmożona ekspresja wskazuje na udział tej cytokiny w przebudowie tkanek jako części aktywacji astrogleju w procesie prowadzącym do uszkodzeń nerwu wzrokowego.

Poziom ekspresji MMPs i TIMPs badano również w torebce Tenona [45]. W strukturze tej wykazano spadek poziomu transkryptów zarówno MMP-2 jak i TIMP-1. Badania nad występowaniem metaloproteinaz i ich inhibitorów w obrębie nerwu wzrokowego prowadzono również u małą z eksperymentalną jaskrą [1]. Wykazały one znaczący wzrost ekspresji MT1-MMP i MMP-1 w aktywnych astrocytach. Oba te enzymy uczestniczą w migracji astrocytów w obrębie nerwu wzrokowego. Inne doświadczenia prowadzone na szczurach wykazały korelację między apoptozą komórek zwojowych siatkówki, podwyższonym ciśnieniem wewnątrzgałkowym i przebudową macierzy zewnątrzkomórkowej [26]. Towarzyszył im wzrost ekspresji MMP-1, -9, TIMP-1 oraz TGF- β . Ten ostatni jest niezwykle szeroko działającym związkiem mającym ogromne znaczenie w przebiegu jaskry. Jest on jednocześnie inhibitorem MMPs i stymulatorem wydzielania TIMPs. Ponadto, TGF- β działa neuroprotekcynnie poprzez swoje właściwości antyoksydacyjne, wpływ na gospodarkę wapniową w neuronach, czy przez swoje działanie antyapoptotyczne.

Podwyższony poziom metaloproteinaz odkryto nie tylko w obrębie tkanek oka. U osób chorych na jaskrę wzmożoną ekspresję MMP-9 i MT1-MMP wykryto także w limfocytach [25], co jest prawdopodobnie skutkiem łagodnego niedokrwienia.

6.1. MMPs jako markery molekularne jaskry kąta otwartego

Do niedawna badania diagnostyczne jaskry opierały się głównie na pomiarach ciśnienia wewnątrzgałkowego. Niestety dawało to zafałszowany obraz w przypadku nadciśnienia ocznego lub jaskry prawidłowego ciśnienia. Dzięki znacznemu rozwojowi techniki dziś w celach diagnostycznych używa się metod pozwalających określić stopień degeneracji włókien nerwowych, stan tarczy nerwu wzrokowego czy zakres pola widzenia. Do takich urządzeń należą: HRT/HRF (Heidelberg retina tomograph/flowmeter) – tomograf i przepływomierz siatkówkowy Heidelberg, TopSS (topographic scanning system) – skaningowy oftalmoskop laserowy, GDx (nerve fiber analyzer) – analizator włókien nerwowych, RTA (retinal thickness analyzer) – analizator grubości siatkówki, czy OCT (optical coherence tomography) – optyczny koherentny tomograf [39]. Niestety nie ma jeszcze urządzeń tego typu, które potrafiłyby przewidzieć jakie jest prawdopodobieństwo wystąpienia jaskry u określonego pacjenta. Tu z pomocą mogą przyjść metaloproteiny.

Ze względu na wysoce prawdopodobny związek aktywności matriksyn z rozwojem jaskry istotnym wydaje się

Tabela 2. Wybrane polimorfizmy genów kodujących metaloproteinazy macierzowe (MMP), tkankowe inhibitory metaloproteinaz macierzowych (TIMP) oraz czynniki indukujące ekspresję: TNF- α , TGF- β , IL-1

| Gen | Pozycja | Polimorfizm |
|---------------|----------|-------------|
| MMP-1 | -1607 pz | 1G/2G |
| MMP-2 | -1306 pz | C/T |
| MMP-3 | -1612 pz | 5A/6A |
| MMP-7 | -181 pz | A/G |
| MMP-9 | -1562 pz | C/T |
| MMP-12 | -82 pz | A/G |
| TIMP-1 | -372 pz | C/T |
| TIMP-2 | -418 pz | G/C |
| TNF- α | -308 pz | G/A |
| TGF- β | +252 pz | A/G |
| IL-1 | -511 pz | C/T |

pz – pozycja polimorfizmu mierzona jako pary zasad od miejsca startu transkrypcji.

zbadań wpływu zmian w genach kodujących zarówno MMP jak i czynniki indukujące ich ekspresją i inhibitory. Tym bardziej, iż coraz wyraźniej wskazuje się na genetyczne predyspozycje wystąpienia tej choroby. Znane polimorfizmy genów kodujących metaloproteinazy macierzowe dotyczą najczęściej regionów promotorowych, które mogą wpływać na poziom ich ekspresji. Poznanie zależności między polimorfizmami genów MMP i poziomem tych enzymów umożliwiłyby zastosowanie wariantów polimorficznych metaloproteinaz w prognozowaniu rozwoju jaskry przez typowanie osób największego ryzyka, które objęte byłyby specjalnym programem profilaktycznym. Jest to niezwykle istotne, ponieważ w większości chorych początkowy przebieg schorzenia jest bezobjawowy, a jednym z najważniejszych czynników przesądającym o sukcesie leczenia jest jak najwcześniejsze zastosowanie terapii chirurgicznej i farmakologicznej.

6.2. Ukierunkowana terapia jaskry kąta otwartego z wykorzystaniem MMPs

U chorych na jaskrę stosuje się dwie strategie postępowania terapeutycznego – farmakologiczne, a w razie dalszego postępu neuropatii – chirurgiczne. Klasyczne leczenie jaskry opierało się głównie na obniżaniu ciśnienia wewnątrzgałkowego. Dziś, dzięki poszerzeniu wiedzy na temat patomechanizmów tej choroby stosowana terapia mogła zostać znacznie poszerzona. Leczenie jaskry pierwotnej otwartego kąta obejmuje trzy sposoby: obniżenie ciśnienia wewnątrzgałkowego i jego stabilizacja (nawet w wypadku jaskry prawidłowego ciśnienia), poprawa przepływu krwi w obrębie oka oraz neuroprotekcja.

Do leków z pierwszej grupy należą β -blokerzy, α/β -blokerzy, $\alpha 1$ -blokerzy, $\alpha 2$ -antagoniści i prostaglandyny. Przeprowadzono badania nad wpływem tych leków na metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej i ich tkankowych inhibitorów w tkance spojówkowej i podspojówkowej [35]. Wykazały one, że wszystkie badane związki (z wyjątkiem β -blokerów) stymulują degradację macierzy zewnątrzkomórkowej wpływając na równowagę między

MMPs i TIMPs. Następnym tego procesu jest ułatwienie wypływu cieczy wodnistej z oka na skutek lizy tkanki otaczającej mięsień rzęskowy. Inną grupą leków obniżających ciśnienie śródoczne są blokery anhidrazy węglanowej, których działanie opiera się na zmniejszeniu wytwarzania cieczy wodnistej w ciele rzęskowym.

Ze względu na istotną rolę niedokrwienia nerwu wzrokowego w patogenezie jaskry zaczęto stosować leki poprawiające perfuzję. Jednym ze stosowanych leków jest β -bloker o nazwie betaksolol. Ma on powinowactwo do receptora β -2 naczyniorozszerzającego, dzięki czemu przeciwdziała skurczom naczyń krwionośnych odżywiających nerw wzrokowy. Ponadto związek ten ma aktywność inhibitora kanału wapniowego, dzięki czemu dodatkowo poprawia krążenie w obrębie nerwu wzrokowego. Trwają również badania nad wykorzystaniem naturalnego antagonisty wapnia – magnezu.

Leki blokujące działanie kanałów wapniowych mają także działanie neuroprotekcjne. Podobną funkcję pełnią także inhibitory receptora glutaminianu i związki o działaniu antyoksydacyjnym. W leczeniu eksperymentalnym wykorzystuje się leki stosowane powszechnie w chorobie Parkinsona (np. memantynę), a także wyciągi z miłorzębu japońskiego (*Ginkgo biloba*). Preparat działa nie tylko neuroprotekcjnie, ale także zawiera zmiatacze wolnych rodników, związki blokujące kanał wapniowy i substancje poprawiające przepływ krwi w tętnicy ocznej. Szczególnie ważne jest stosowanie leków o silnym potencjale antyoksydacyjnym, gdyż powstające w wyniku stresu oksydacyjnego reaktywne formy tlenu działają aktywująco na komórki astrogleju. Powoduje to wydzielanie m.in. metaloproteinaz (zwłaszcza MMP-9) oraz TNF- α .

Szczególnie ważnym enzymem jest MMP-9, gdyż jest on zaangażowany w wiele procesów patologicznych towarzyszących jaskrze, m.in. apoptozę, zmianę kształtu blaszki siatkowej, a także przerwanie bariery krew–mózg. Aktywność matryksyny 9 może być regulowana przez związek GM6001 (metylamid N-[(2R)-2-hydroksyamidokarbonylometylo-4-metylopentano-L-tryptofanu], znany także jako Ilomastat. Badania dowiodły, że leczenie zwierząt tym farmaceutykiem zapobiegało ubytkowi komórek zwojowych siatkówki. Co więcej u myszy niemających genu kodującego MMP-9 w nerwie wzrokowym nie wykryto zjawiska programowanej śmierci komórki.

TNF- α w jaskrze, oprócz wcześniej wymienionych funkcji, bierze udział w kaskadzie sygnałów aktywujących śmierć komórki w komórkach zwojowych siatkówki, umożliwia remodeling nerwu wzrokowego oraz jest stymulatorem wydzielania tlenu azotu [45]. Podczas badań na zwierzętach udowodniono, że farmakologiczna inhibicja syntazy tlenu azotu NOS-2 przez aminoguanidynę powoduje spadek degeneracji komórek zwojowych siatkówki [54]. Tym samym osłabienie działania lub całkowita blokada TNF- α może mieć działanie terapeutyczne u pacjentów z jaskrą, przyczyniając się do zmniejszenia stopnia neuropatii.

Jeśli terapia farmakologiczna nie przynosi oczekiwanych wyników, stosuje się leczenie chirurgiczne. W celu ułatwienia odpływu cieczy wodnistej przez wytworzenie zmian w sieci beleczkowania stosuje się trabekuloplastykę laser-

rową. Efekty tego zabiegu nie trwają jednak dłużej niż 5 lat. Dzieje się tak ze względu na to, iż zabieg ten indukuje aktywność metaloproteinaz, czego skutkiem jest zniweczenie korzyści z całej operacji przez aktywną i rozplem włókniaka dającego rozliczne zrosty tkanek.

W sieci beleczkowej ekspresja MMP-3 i -9 jest wzmocniona po leczeniu laserem, co z kolei może pośredniczyć w wystąpieniu efektu obniżonego ciśnienia krwi w gałce ocznej po trabekuloplastyce. Dodatkowym działaniem niepożądanym jest przyspieszanie przez metaloproteinazy formowania blizn po operacyjnym leczeniu jaskry. W celu przeciwdziałania proliferacyjnym aktywnościom metaloproteinaz wraz z leczeniem chirurgicznym stosuje się miejscowo środki farmakologiczne, takie jak mitomycyna C.

7. PODSUMOWANIE

Ciągły rozwój nowoczesnych metod diagnostycznych powoduje, że na wiele dotychczas szczegółowo opisanych schorzeń zaczynamy patrzeć pod zupełnie innym kątem. Diagnostyka poprzedzająca postawienie klinicznego rozpoznania choroby zostaje przeniesiona z objawów na analizę bezpośrednich przyczyn. Wdrażanie nowoczesnych metod diagnostycznych wyraźnie wykazuje, że medycyna praktyczna będzie coraz częściej determinowana diagnostyką molekularną. Jaskra, zabierająca od pokoleń bezpowrotnie wzrok milionom ludzi staje się również ciekawym tematem wymagającym analizy na poziomie molekularnym.

W przypadku jaskry kąta otwartego, coraz więcej nowoczesnych metod diagnostycznych i terapeutycznych umożliwia skuteczne przejście z etapu prób i działań modelowych na etap standardów postępowania. Jeszcze nie tak dawno diagnostyka: tomografii koherentnej, HRT lub RTA czy metody laserowej terapii kąta przesączania były wyłącznie postulatem teoretycznym. Dziś są tymi procedurami, które wdrożone i coraz częściej stosowane przynoszą wymierne korzyści tysiącom pacjentów każdego dnia. Analogicznie dzieje się z terapią farmakologiczną jaskry. Poczawszy od kolejno proponowanych coraz to nowych generacji leków hamujących sekrecję cieczy wodnistej, poprzez leki alternatywnego odpływu płynu ocznego na lekach antyapoptotycznych kończąc. To przykłady zrozumienia procesów biochemicznych na molekularnym poziomie. Wiedza wykorzystująca udział metaloproteinaz macierzowych i ich regulatorów w etiologii jaskry otwartego kąta wyznacza dalsze kierunki badań, które mogą się przyczynić do rozwoju nowych metod diagnostyczno-terapeutycznych tego schorzenia.

Wydaje się, że próby diagnostyki schorzeń z opóźnionymi skutkami następstw w stosunku do ich wczesnego wykrycia dają szansę na ich eliminację. Dziś jaskra to problem diagnostyczno-terapeutyczny na skalę epidemiologiczną. Wdrożenie metod opartych na analizie podstaw biochemicznych schorzenia na poziomie molekularno-histologicznym daje wspaniałe możliwości zapobieżenia skutkom jaskry – choroby do niedawna zabierającej w sposób nieodwracalny wzrok setkom tysięcy ludzi na całym świecie.

PIŚMIENICTWO

- [1] Agapova O.A., Kaufman P.L., Lucarelli M.J., Gabelt B.T., Hernandez M.R.: Differential expression of matrix metalloproteinases in monkey eyes with experimental glaucoma or optic nerve transection. *Brain Res.*, 2003; 967: 132–143
- [2] Ahonen M., Poukkula M., Baker A.H., Kashiwagi M., Nagase H., Eriksson J.E., Kähäri V.M.: Tissue inhibitor of metalloproteinases-3 induces apoptosis in melanoma cells by stabilization of death receptors. *Oncogene*, 2003; 22: 2121–2134
- [3] Arenas I.A., Xu Y., Lopez-Jaramillo P., Davidge S.T.: Angiotensin II-induced MMP-2 release from endothelial cells is mediated by TNF- α . *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2004; 286: C779–C784
- [4] Bazan N.: COX-2 as a multifunctional neuronal modulator. *Nat. Med.*, 2001; 7: 414–415
- [5] Bian J., Wang Y., Smith M.R., Kim H., Jacobs C., Jackman J., Kung H., Colburn N.H., Sun Y.: Suppression of *in vivo* tumor growth and induction of suspension cell death by tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)-3. *Carcinogenesis*, 1996; 17: 1805–1811
- [6] Bruner-Tran K.L., Eisenberg E., Yeaman G.R., Anderson T.A., McBean J., Osteen K.G.: Steroid and cytokine regulation of matrix metalloproteinase expression in endometriosis and the establishment of experimental endometriosis in nude mice. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 87: 4782–4791
- [7] Chesler L., Golde D.W., Bersch N., Johnson M.D.: Metalloproteinase inhibition and erythroid potentiation are independent activities of tissue inhibitor of metalloproteinases-1. *Blood*, 1995; 86: 4506–4515
- [8] Cioffi G.A.: Ischemic model of optic nerve injury. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.*, 2005; 103: 592–613
- [9] Cordeiro M., Guo L., Luong V., Harding G., Wang W., Jones H., Moss S., Sillito A., Fitzke F.: Real-time imaging of single nerve cell apoptosis in retinal neurodegeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 13352–13356
- [10] Curry T.E.Jr, Osteen K.G.: The matrix metalloproteinase system: changes, regulation, and impact throughout the ovarian and uterine reproductive cycle. *Endocr. Rev.*, 2003; 24: 428–465
- [11] Damsky C., Sutherland A., Fisher S.: Extracellular matrix 5: Adhesive interactions in early mammalian embryogenesis, implantation, and placenta. *FASEB J.*, 1993; 7: 1320–1329
- [12] Di Girolamo N., Coroneo M. T., Wakefield D.: Active matrilysin (MMP-7) in human pterygia: potential role in angiogenesis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2001; 42: 1963–1968
- [13] Duffy M.J., Maguire T.M., Hill A., McDermott E., O'Higgins N.: Metalloproteinases: role in breast carcinogenesis, invasion and metastasis. *Breast Cancer Res.*, 2000; 2: 252–257
- [14] Dzikowska-Bartkowiak B., Żebrowska A., Joss-Wichman E., Kobos J., Waszczykowska E.: Stężenie metaloproteinazy 2 i 9 (MMP-2 i MMP-9) w surowicy chorych na twardzinę układową – porównanie z ich ekspresją w chorobowo zmienionej skórze – badania wstępne. *Post. Dermatol. Alergol.*, 2007; 2: 73–81
- [15] Entrez Gene TIMP1 TIMP metalloproteinase inhibitor 1 [Homo sapiens]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=7076&ordinalpos=12&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum (19.04.2008)
- [16] Entrez Gene TIMP2 TIMP metalloproteinase inhibitor 2 [Homo sapiens]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=7077&ordinalpos=11&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum (19.04.2008)
- [17] Entrez Gene TIMP3 TIMP metalloproteinase inhibitor 3 (Sorsby fundus dystrophy, pseudoinflammatory) [Homo sapiens]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=7078&ordinalpos=8&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum (19.04.2008)
- [18] Entrez Gene TIMP4 TIMP metalloproteinase inhibitor 4 [Homo sapiens]. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=gene&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=7079&ordinalpos=1&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Gene.Gene_ResultsPanel.Gene_RVDocSum (19.04.2008)
- [19] Feldman A.L., Stetler-Stevenson W.G., Costouros N.G., Knezevic V., Baibakov G., Alexander H.R. Jr, Lorang D., Hewitt S.M., Seo D., Miller M.S., O'Connor S., Libutti S.K.: Modulation of tumor-host interactions, angiogenesis, and tumor growth by tissue inhibitor of metalloproteinase 2 via a novel mechanism. *Cancer Res.*, 2004; 64: 4481–4486

- [20] Fontaine V., Jacob M.P., Houard X., Rossignol P., Plissonnier D., Angles-Cano E., Michel J.B.: Involvement of the mural thrombus as a site of protease release and activation in human aortic aneurysms. *Am. J. Pathol.*, 2002; 161: 1701–1710
- [21] Foster P.J.: Advances in the understanding of primary angle-closure as a cause of glaucomatous optic neuropathy. *Community Eye Health*, 2001; 14: 37–39
- [22] Foster P.J., Buhrmann R., Quigley H.A., Johnson G.J.: The definition and classification of glaucoma in prevalence surveys. *Br. J. Ophthalmol.*, 2002; 86: 238–242
- [23] Fuchsjäger-Mayrl G., Wally B., Georgopoulos M., Rainer G., Kircher K., Buehl W., Amoako-Mensah T., Eichler H., Vass C., Schmetterer L.: Ocular blood flow and systemic blood pressure in patients with primary open glaucoma and ocular hypertension. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2004; 45: 834–839
- [24] Goda S., Inoue H., Umehara H., Miyaji M., Nagano Y., Harakawa N., Imai H., Lee P., McCarthy J.B., Ikeo T., Domae N., Shimizu Y., Iida J.: Matrix metalloproteinase-1 produced by human CXCL12-stimulated natural killer cells. *Am. J. Pathol.*, 2006; 169: 445–458
- [25] Golubnitschaja O., Yeghiazaryan K., Liu R., Mönkemann H., Leppert D., Schild H., Haefliger I.O., Flammer J.: Increased expression of matrix metalloproteinases in mononuclear blood cells of normal-tension glaucoma patients. *J. Glaucoma*, 2004; 13: 66–72
- [26] Guo L., Moss S.E., Alexander R.A., Ali R.R., Fitzke F.W., Cordeiro M.F.: Retinal ganglion cell apoptosis in glaucoma is related to intraocular pressure and IOP-induced effects on extracellular matrix. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2005; 46: 175–182
- [27] Gutteridge I.F.: Normal tension glaucoma: diagnostic features and comparisons with primary open angle glaucoma. *Clin. Exp. Optom.*, 2000; 83: 161–172
- [28] Herman M.P., Sukhova G.K., Kisiel W., Foster D., Kehry M.R., Libby P., Schönbeck U.: Tissue factor pathway inhibitor-2 is a novel inhibitor of matrix metalloproteinases with implications for atherosclerosis. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 1117–1126
- [29] Higashi S., Miyazaki K.: Identification of a region of β -amyloid precursor protein essential for its gelatinase A inhibitory activity. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 14020–14028
- [30] Ho S.L., Dogar G.F., Wang J., Crean J., Wu Q.D., Oliver N., Weitz S., Murray A., Cleary P.E., O'Brien C.: Elevated aqueous humour tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 and connective tissue growth factor in pseudoexfoliation syndrome. *Br. J. Ophthalmol.*, 2005; 89: 169–173
- [31] Hollander D.A., Sarfarazi A., Stoilov I., Wood I.S., Fredrick D.R., Alvarado J.A.: Genotype and phenotype correlations in congenital glaucoma. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.*, 2006; 104: 183–195
- [32] Holmbeck K., Bianco P., Pidoux I., Inoue S., Billingham R. C., Wu W., Chrysovergis K., Yamada S., Birkedal-Hansen H., Poole A.R.: The metalloproteinase MT1-MMP is required for normal development and maintenance of osteocyte processes in bone. *J. Cell Sci.*, 2005; 118: 147–156
- [33] Hsu J.Y., McKeon R., Goussev S., Werb Z., Lee J.U., Trivedi A., Noble-Haueslein L.J.: Matrix metalloproteinase-2 facilitates wound healing events that promote functional recovery after spinal cord injury. *J. Neurosci.*, 2006; 26: 9841–9850
- [34] Hyams S.W., Keroub C., Pokotilo E.: Mixed glaucoma. *Br. J. Ophthalmol.*, 1977; 61: 105–106
- [35] Ito T., Ohguro H., Mamiya K., Ohguro I., Nakazawa M.: Effects of antiglaucoma drops on MMP and TIMP balance in conjunctival and subconjunctival tissue. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2006; 47: 823–830
- [36] Kazes I., Elalamy I., Sraer J., Hatmi M., Nguyen G.: Platelet release of trimolecular complex components MT1-MMP/TIMP2/MMP2: involvement in MMP2 activation and platelet aggregation. *Blood*, 2000; 96: 3064–3069
- [37] Ko M.K., Kim D.S., Ahn Y.K.: Peripapillary circle of Zinn-Haller revealed by fundus fluorescein angiography. *Br. J. Ophthalmol.*, 1997; 82: 663–667
- [38] Koliakos G.G., Konstas A.G., Schlötzer-Schrehardt U., Hollo G., Mitova D., Kovatchev D., Maloutas S., Georgiadis N.: Endothelin-1 concentration is increased in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Br. J. Ophthalmol.*, 2004; 88: 523–527
- [39] Krajewska M.: Nowoczesne badania diagnostyczne w jaskrze. *Przew. Lek.*, 2002; 5: 99–101
- [40] Lambert E., Boudot C., Kadri Z., Soula-Rothhut M., Sowa M., Mayeux P., Hornebeck W., Haye B., Petitfrere E.: Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 signalling pathway leading to erythroid cell survival. *Biochem. J.*, 2003; 372: 767–774
- [41] Lee C., Lin C., Lin W., Liang K., Luo S., Wu C., Wang S., Yang C.: TNF- α induces MMP-9 expression via activation of Src/EGFR, PDGFR/PI3K/Akt cascade and promotion of NF- κ B/p300 binding in human tracheal smooth muscle cells. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.*, 2007; 292: 799–812
- [42] Lee K.S., Min K.H., Kim S.R., Park S.J., Park H.S., Jin G.Y., Lee Y.C.: Vascular endothelial growth factor modulates matrix metalloproteinase-9 expression in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2006; 174: 161–170
- [43] Levkau B., Kenagy R.D., Karsan A., Weitkamp B., Clowes A.W., Ross R., Raines E.W.: Activation of metalloproteinases and their association with integrins: an auxiliary apoptotic pathway in human endothelial cells. *Cell Death Differ.*, 2002; 9: 1360–1367
- [44] Lipka D., Boratyński J.: Metaloproteinazy MMP. *Struktura i funkcja. Post. Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 328–336
- [45] Liu C.J., Huang Y.L., Ju J.P., Lu C.L., Chiu A.W.: Altered transcripts expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in tenon capsule of patients with glaucoma. *J. Glaucoma*, 2004; 13: 486–491
- [46] Liu L., Chang H., Chiang L., Hung W.: Histone deacetylase inhibitor up-regulates RECK to inhibit MMP-2 activation and cancer cell invasion. *Cancer Res.*, 2003; 63: 3069–3072
- [47] Łukaszewicz M., Mroczko B., Szmítowski M.: Rola metaloproteinaz i ich inhibitorów w raku trzustki. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 141–147
- [48] Martina D.C., Fowlkes J.L., Babica B., Khokha R.: Insulin-like growth factor II signaling in neoplastic proliferation is blocked by transgenic expression of the metalloproteinase inhibitor TIMP-1. *J. Cell Biol.*, 1999; 146: 881–892
- [49] Mengsholli J.A., Vincenti M.P., Brinckerhoff C.E.: IL-1 induces collagenase-3 (MMP-13) promoter activity in stably transfected chondrocytic cells: requirement for Runx-2 and activation by p38 MAPK and JNK pathways. *Nucl. Acids Res.* 2001; 29: 4361–4372
- [50] Morgan J., Caprioli J., Koseki Y.: Nitric oxide mediates excitotoxic and anoxic damage in rat retinal ganglion cells cocultured with astroglia. *Arch. Ophthalmol.*, 1999; 117: 1524–1529
- [51] Mott J.D., Thomas C.L., Rosenbach M.T., Takahara K., Greenspan D.S., Banda M.J.: Post-translational proteolytic processing of procollagen C-terminal proteinase enhancer releases a metalloproteinase inhibitor. *Biol. Chem.* 2000; 275: 1384–1390
- [52] Murphy A.N., Unsworth E.J., Stetler-Stevenson W.G.: Tissue inhibitor of metalloproteinases-2 inhibits bFGF-induced human microvascular endothelial cell proliferation. *J. Cell Physiol.*, 1993; 157: 351–358
- [53] Nagase H., Visse R., Murphy G.: Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc. Res.*, 2006; 69: 562–573
- [54] Neufeld A.H., Sawada A., Becker B.: Inhibition of nitric-oxide synthase 2 by aminoguanidine provides neuroprotection of retinal ganglion cells in a rat model of chronic glaucoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 9944–9948
- [55] Newby A.C.: Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol. Rev.*, 2005; 85: 1–31
- [56] Nizankowska M.H., Kaczmarek R.: Prevalence of glaucoma in the Wrocław population. The Wrocław epidemiological study. *Ophthalmic. Epidemiol.*, 2005; 12: 363–371
- [57] Noske W., Hensen J., Wiederholt M.: Endothelin-like immunoreactivity in aqueous humor of patients with primary open-angle glaucoma and cataract. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 1997; 235: 551–552
- [58] Núñez O., Fernández-Martínez A., Majano P.L., Apolinario A., Gómez-Gonzalo M., Benedicto L., López-Cabrera M., Boscá L., Clemente G., García-Monzón C., Martín-Sanz P.: Increased intrahepatic cyclooxygenase 2, matrix metalloproteinase 2, and matrix metalloproteinase 9 expression is associated with progressive liver disease in chronic hepatitis C virus infection: role of viral core and NS5A proteins. *Gut*, 2004; 53: 1665–1672
- [59] Oelmann E., Herbst H., Zühlendorf M., Albrecht O., Nolte A., Schmitmann C., Mancke O., Diehl V., Stein H., Berdel W.E.: Tissue inhibitor of metalloproteinases 1 is an autocrine and paracrine survival factor, with additional immune-regulatory functions, expressed by Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *Blood*, 2002; 99: 258–267

- [60] Olewicz-Gawlik A., Hrycaj P., Łącki J.K.: Metaloproteiny w patogenie zapalnych układowych chorób reumatycznych. *Reumatologia*, 2005; 43: 280–285
- [61] Pease M.E., McKinnon S.J., Quigley H.A., Kerrigan-Baumrind L.A., Zack D.J.: Obstructed axonal transport of BDNF and its receptor TrkB in experimental glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2000; 41: 764–774
- [62] Porter S., Clark I.M., Kevorkian L., Edwards D.R.: The ADAMTS metalloproteinases. *Biochem. J.*, 2005; 386: 15–27
- [63] Quigley H.A., Addicks E.M.: Chronic experimental glaucoma in primates. II. Effect of extended intraocular pressure elevation on optic nerve head and axonal transport. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1980; 19: 137–152
- [64] Ra H., Parks W.C.: Control of matrix metalloproteinase catalytic activity. *Matrix Biol.*, 2007; 26: 587–596
- [65] Ramos-DeSimone N., Hahn-Dantona E., Siple J., Nagase H., French D.L., Quigley J.P.: Activation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) via a converging plasmin/stromelysin-1 cascade enhances tumor cell invasion. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 13066–13076
- [66] Resnikoff S., Pascolini D., Etya'ale D., Kocur I., Pararajasegaram R., Pokharel G.P., Mariotti S.P.: Global data on visual impairment in the year 2002. *Bull. World Health Organ.*, 2004; 82: 844–851
- [67] Ricke W.A., Smith G.W., Smith M.F.: Matrix metalloproteinase expression and activity following prostaglandin F_{2α}-induced luteolysis. *Biol. Reprod.*, 2002; 66: 685–691
- [68] Rönkkö S., Rekonen P., Kaarniranta K., Puustjärvi T., Teräsvirta M., Uusitalo H.: Matrix metalloproteinases and their inhibitors in the chamber angle of normal eyes and patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 2007; 245: 697–704
- [69] Schlötzer-Schrehardt U., Lommatzsch J., Küchle M., Konstas A.G., Naumann G.O.: Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2003; 44: 1117–1125
- [70] Sternlicht M.D., Werb Z.: How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.*, 2001; 17: 463–516
- [71] Stetler-Stevenson W.G., Bersch N., Golde D.W.: Tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2) has erythroid-potentiating activity. *FEBS Lett.*, 1992; 296: 231–234
- [72] Szaffik J., Izdebska I., Tesla P.: *Jaskra. Przew. Lek.*, 2000; 3: 88–96
- [73] Śliwowska I., Koczyński Z.: Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej – charakterystyka biochemiczna i kliniczna wartość oznaczenia u chorych na raka piersi. *Współ. Onkol.*, 2005; 9: 327–335
- [74] Tamm E.R., Fuchshofer R.: What increases outflow resistance in primary open-angle glaucoma? *Surv. Ophthalmol.*, 2007; 52: S101–S104
- [75] Taraboletti G., D'Ascenzo S., Borsotti P., Giavazzi R., Pavan A., Dolo V.: Shedding of the matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP as membrane vesicle-associated components by endothelial cells. *Am. J. Pathol.*, 2002; 160: 673–680
- [76] Taylor C., Senchyna M., Flanagan J., Joyce E., Cliche D.O., Boone A.N., Culp-Stewart S., Thompson J.E.: Role of eIF5A in TNF- α -mediated apoptosis of lamina cribrosa cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2004; 45: 3568–3576
- [77] Tchvetverikov I., Runday H.K., van El B., Kiers G.H., Verzijl N., TeKoppele J.M., Huizinga T.W., DeGroot J., Hanemaaijer R.: MMP profile in paired serum and synovial fluid samples of patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2004; 63: 881–883
- [78] Thomas-Ecker S., Lindecke A., Hatzmann W., Kaltschmidt C., Zänker K.S., Dittmar T.: Alteration in the gene expression pattern of primary monocytes after adhesion to endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007; 104: 5539–5544
- [79] Verstappen J., Von den Hoff J.W.: Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): their biological functions and involvement in oral disease. *J. Dent. Res.*, 2006; 85: 1074–1084
- [80] Visse R., Nagase H.: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ. Res.*, 2003; 92: 827–839
- [81] Wang H., Keiser J.A.: Vascular endothelial growth factor upregulates the expression of matrix metalloproteinases in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.*, 1998; 83: 832–840
- [82] Wang L., Luo J., He S.: Induction of MMP-9 release from human dermal fibroblasts by thrombin: involvement of JAK/STAT3 signaling pathway in MMP-9 release. *BMC Cell. Biol.*, 2007; 8: 14
- [83] Wang Z., Juttermann R., Soloway P.D.: TIMP-2 is required for efficient activation of proMMP-2 *in vivo*. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 26411–26415
- [84] Westermarck J., Kähäri V.: Regulation of matrix metalloproteinase expression in tumor invasion. *FASEB J.*, 1999; 13: 781–792
- [85] Yan X., Tezel G., Wax M.B., Edward D.P.: Matrix metalloproteinases and tumor necrosis factor alpha in glaucomatous optic nerve head. *Arch. Ophthalmol.*, 2000; 118: 666–673
- [86] Zahner G., Harendza S., Müller E., Wolf G., Thaiss F., Stahl R.: Prostaglandin E2 stimulates expression of matrix metalloproteinase 2 in cultured rat mesangial cells. *Kidney Int.*, 1997; 51: 1116–1123
- [87] Zhu P., Ding J., Zhou J., Dong W., Fan C., Chen Z.: Expression of CD147 on monocytes/macrophages in rheumatoid arthritis: its potential role in monocyte accumulation and matrix metalloproteinase production. *Arthritis Res. Ther.*, 2005; 7: 1023–1033
- [88] Zucker S., Hymowitz M., Rollo E.E., Mann R., Conner C.E., Cao J., Foda H.D., Tompkins D.C., Toole B.P.: Tumorigenic potential of extracellular matrix metalloproteinase inducer. *Am. J. Pathol.*, 2001; 158: 1921–1928
- [89] Żebrowska A., Bogdańska M., Waszczykowska E.: Metaloproteiny i adamałzyny w patomechanizmie pemfigoidu. *PDiA*, 2005; 22: 283–287