

СОСТОЯНИЕ МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА У ПАЦИЕНТОВ С ГЛАУКОМОЙ

Маркелова Е.В., Кириенко А.В.

ГБОУ ВПО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, Владивосток, Россия (690002, г. Владивосток, пр. Острякова 2), eyelazer@mail.ru

Обследованы пациенты с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) I-III стадиями (133 человека) и закрытоугольной глаукомой I-III стадиями (27 человек). Определение содержания металлопротеиназы-9, ее тканевого ингибитора I типа и комплексов MMP-9/TIMP-I и MMP-9/TIMP-II в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ и ЗУГ разных стадий проведено методом твердофазного ИФА с применением специфических реактивов «R&D Diagnostics Inc.» (USA). Для определения достоверности различий использовалась непараметрическая статистика (медиана, нижний и верхний квартиль, критерий Манна-Уитни Вилконсона, χ^2), с использованием программы SPSS v 16. При глаукоме у пациентов выявлены нарушения в системе металлопротеиназы-9 и ее тканевых ингибиторов I и II типа, характеризующиеся локальной гиперпродукцией MMP-9 и ее комплексов с TIMP-I и TIMP-II независимо от типа глаукомы, при недостатке свободного тканевого ингибитора I типа у пациентов с ПОУГ. Степень нарушений в системе металлопротеиназы-9 и ее тканевых ингибиторов сопряжена с тяжестью заболевания как при ПОУГ, так и при ПЗУГ, что свидетельствует о существенной роли нарушений межклеточного матрикса в патогенезе глаукомы. Повышение MMP-9 в слезной жидкости более 80,0 пг/мл можно рассматривать как дополнительный критерий ранней диагностики ПОУГ.

Ключевые слова: Металлопротеиназа-9, ее тканевые ингибиторы, открытоугольная глаукома, закрытоугольная глаукома.

INTERCELLULAR MATRIX CONDITION AT PATIENTS WITH GLAUCOMA

Markelova E.V., Kirienko A.V.

GBOU VPO the Pacific state medical university Ministries of health and social development Russia Federation, Vladivostok, Russia (690002, Vladivostok, avenue Ostrjakova 2), eyelazer@mail.ru

Patients with primary open-angle glaucoma (POAG) I-III stages (133 persons) and closed-angle glaucoma (CAG) the I-III stages (27 people) were surveyed. Definition of the maintenance of a metalproteinase-9, its fabric inhibitor I of type and kompleksovmmr-9/TIMP-I and MMP-9/TIMP-II in plaintive liquid at patients with POAG and CAG of different stages is carried out metodtverdofazny IFA with application of specific reactants "R&D Diagnostics Inc." (USA). For determination of reliability of distinctions it was used nonparametric statistics (a median, the bottom and top quartile, Mann-Whitney Vilkonson's criterion, χ^2), with SPSS v 16 program use. At glaucoma patients violations in system of a metalproteinase-9 and its fabric inhibitors I and II type, being characterized by local hyperproduction of MMR-9 and its complexes with TIMP-I and TIMP-II irrespective of glaucoma type are revealed, at a lack of free fabric inhibitor I of type at patients with POUG. Extent of violations in system of a metalproteinase-9 and its fabric inhibitors is interfaced to weight of a disease both at POUG, and at PZUG that testifies to an essential role of violations intercellular matrix in pathogenesis glaucomas. MMR-9 increase in plaintive liquid can be considered more than 80,0 pg/ml as additional criterion of early diagnostics of POAG.

Keywords: Metalproteinase, open-angle glaucoma, closed-angle glaucoma.

Введение

Матриксные металлопротеиназы относятся к семейству Zn^{2+} - и Ca^{2+} -зависимых эндопептидаз, участвующих в ремоделировании соединительной ткани посредством разрушения ее органических компонентов при физиологических значениях pH [1]. ММП секроторного типа (классические, свободные, растворимые), а именно ММП-9 относятся к желатиназам. Металлопротеиназы продуцируются нормальными или трансформированными клетками: нейтрофилами, моноцитами, макрофагами, фибробластами, остеокластами, хондроцитами, кератиоцитами, эндотелиальными и эпителиальными клетками [6].

Экспрессия матриксных металлопротеиназ подобна экспрессии других белков острой фазы и регулируется провоспалительными цитокинами [2].

ММР-9 или желатиназа В имеет высокое сродство к денатурированному коллагену, но также способна расщеплять нативный коллаген IV, V и XI типов, эластин, а также IL-8, активирующий пептид соединительной ткани III, пластиночный фактор-4, субстанцию Р, амилоидный пептид β . В зависимости от места расщепления этих молекул ММР-9 может понижать или повышать их биологическую активность. ММР-9 инактивирует IL-1 β [7].

Основная биологическая функция ММП заключается в удалении компонентов внеклеточного матрикса. Металлопротеиназы регулируют действие ростовых факторов: сосудистого эндотелиального фактора роста, рецептора фактора роста фибробластов, эпителиального фактора роста и инсулиноподобного фактора роста. ММП-9 способствует активации трансформирующего фактора роста β , являющегося хемоаттрактантом для моноцитов, высвобождая его из матрикса [4].

Процесс выработки ММР на посттрансляционном уровне определяется тесной взаимосвязью между индукторами и тканевыми ингибиторами активности. Отмечено значение в патогенезе ПОУГ комплекса ММР с его ингибитором TIMP [5]. Повышение активности металлопротеиназ и их ингибиторов (TIMP-1) приводит к чрезмерному синтезу экстраклеточного матрикса, что может быть одной из причин снижения оттока внутриглазной жидкости. Этому же мнения придерживаются В.В. Волков (2008), Рукина Д.А. (2012).

Однако изучение металлопротеиназ проводилось чаще при ПОУГ, отсутствуют сравнительные исследования при ПОУГ и ПЗУГ.

Цель исследования

Проанализировать локальный уровень ММР-9, ее тканевого ингибитора I типа и комплексов ММР-9 с тканевым ингибитором I и II типа, а также рассчитать коэффициент соотношения ММР-9 к TIMP-I у пациентов с первичной открытоугольной и первичной закрытоугольной глаукомой.

Материал и методы исследования

Были обследованы пациенты с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ) I-III стадиями (133 человека) и закрытоугольной глаукомой I-III стадиями (27 человек). Определение содержания металлопротеиназы-9, ее тканевого ингибитора I типа и комплексов ММР-9/TIMP-I и ММР-9/TIMP-II в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ и ЗУГ разных стадий проведено методом твердофазного ИФА с применением специфических реактивов «R&D Diagnostics Inc.» (USA). Для определения достоверности различий

использовалась непараметрическая статистика (медиана, нижний и верхний квартиль, критерий Манна-Уитни-Вилконсона, χ^2), с использованием программы SPSSv 16.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты анализа локального содержания ММР-9, ТИМР-I, комплексов ММР-9/ТИМР-I и ММР-9/ТИМР-II в зависимости от стадии первичной открытоугольной глаукомы представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание металлопротеиназы-9, ее тканевого ингибитора I типа и комплексов ММР-9/ТИМР-I и ММР-9/ТИМР-II в слезной жидкости у пациентов с ПОУГ разных стадий

№ n/n	Показатели (Me; Q ₂₅ - Q ₇₅)	Пациенты ПОУГ			
		n=133 чел/ 201 глаз	I стадия n=39/66	II стадия n=56/64	III стадия n=38/71
1	ММР-9 нг/мл	203,18*** (102,4; 314,8)	124,6*** (88,90; 146,3) p ₁₋₂ <0,05	208,8*** (129,40; 240,3) p ₂₋₃ <0,05	320,4*** (200,0; 348,2) p ₁₋₃ <0,001
2	ТИМР-I нг/мл	1,10* (0,8; 1,30)	1,28* (1,14; 1,36) p ₁₋₂ >0,05	1,30* (1,12; 1,43) p ₂₋₃ <0,05	0,94*** (0,64; 1,2) p ₁₋₃ <0,05
3	<u>ММР-9</u> <u>ТИМР-I</u>	213,2*** (127,5; 241,5)	100,0** (83,4; 127,5) p ₁₋₂ <0,05	176,4*** (117,2; 190,0) p ₂₋₃ <0,01	308,2*** (260,0; 328,6) p ₁₋₃ <0,001
4	ММР- 9/ТИМР-I пг/мл	33,37*** (5,92; 190,4)	20,16* (5,92; 30,20) p ₁₋₂ <0,05	30,26*** (18,15; 140,40) p ₂₋₃ <0,05	58,24*** (30,00; 206,32) p ₁₋₃ <0,001
5	ММР- 9/ТИМР-II пг/мл	47,30*** (39,86; 61,68)	30,24** (14,20; 36,40) p ₁₋₂ <0,05	37,50*** (32,60; 42,40) p ₂₋₃ <0,05	52,24*** (39,86; 68,88) p ₁₋₃ <0,001

Примечание: статистическая достоверность различий между группами: p – с группой контроля: p<0,05 – *; p<0,01 – **; p<0,001 – ***; p_{1,2,3} – сравниваемые группы; # – p<0,05 между группами пациентов с разными клиническими формами глаукомы (ПОУГ и ПЗУГ)

Установлено, что уже при начальной стадии ПОУГ количество ММР-9, ММР-9/ТИМР-I и ММР-9/ТИМР-II в слезной жидкости было статистически значимо повышено по сравнению с контрольными величинами (p<0,05-0,001). При этом зарегистрирован низкий уровень ТИМР-I (p<0,05). При прогрессировании глаукомного процесса зафиксировано усугубление этих нарушений (табл. 1). При ПОУГ II степени определено увеличение большинства исследованных медиаторов в 1,3– 2 раза по сравнению с начальной стадией ПОУГ. Исключение составил уровень ТИМР-I, который не отличался у пациентов с ПОУГ I и II стадиями, но был ниже, чем в контроле (табл. 1). При III стадии ПОУГ определена гиперпродукция ММР-9 и ее комплексов с тканевыми ингибиторами I и II типа. Количество этих медиаторов возрастало в среднем в 2,5– 3 раза по сравнению с начальной стадией ПОУГ (табл. 1). Уровень ТИМР-I значимо снижался по сравнению с I и II стадией ПОУГ (p<0,05). Однако, учитывая, что в комплексе ММР-9/ТИМР-I соотношение ММР-9 и ТИМР-I

оценивается как 1:1 [2], считаем, что можно говорить об умеренном снижении TIMP у пациентов независимо от стадий ПОУГ.

Отдельно проведено исследование содержания медиаторов, отражающих состояние межклеточного матрикса у пациентов с первичной закрытоугольной глаукомой (ПЗУГ) в зависимости от стадии. Проведенный анализ позволил выявить ряд особенностей, как от контрольной группы, так и от пациентов с ПОУГ.

Выявлено, что у людей с ПЗУГ I стадии содержание MMP-9 и TIMP в слезной жидкости не отличалось от референсных величин (табл. 2).

Таблица 2

Содержание металлопротеиназы-9, ее тканевого ингибитора I типа и комплексов MMP-9/TIMP-I и MMP-9/TIMP-II в слезной жидкости у пациентов с ПЗУГ разных стадий глаукомы

№ n/n	Показатели (Me; Q ₂₅ - Q ₇₅) пг/мл	Пациенты ПЗУГ			
		n=27 чел/49 глаз	I стадия n=13/21	II стадия n=8/16	III стадия n=7
1	MMP-9 нг/мл	168,14*** (42,60; 290,0)	43,40 # (27,16; 68,50) p ₁₋₂ <0,05	124,36***# (42,60; 180,34) p ₂₋₃ <0,05	260,40*** (64,30; 310,28) p ₁₋₃ <0,05
2	TIMP-I нг/мл	1,72# (1,0; 1,96)	1,80 # (1,2; 1,74) p ₁₋₂ >0,05	1,60 # (1,0; 1,70) p ₂₋₃ >0,05	1,52 # (0,90; 1,62) p ₁₋₃ >0,05
3	<u>MMP-9</u> TIMP-I	98,4*# (42,0; 177,5)	35,8 # (22,50; 40,4) p ₁₋₂ <0,05	77,5***# (42,0; 105,3) p ₂₋₃ <0,05	170,0***# (71,1; 191,3) p ₁₋₃ <0,01
4	MMP- 9/TIMP-I пг/мл	78,76***# (13,14; 416,33)	24,20* (13,14; 38,80) p ₁₋₂ <0,01	110,34***# (32,20; 280,60) p ₂₋₃ <0,05	260,34 # (58,20; 516,30) p ₁₋₃ <0,001
5	MMP- 9/TIMP-II	67,4***# (18,83; 220,65)	40,34* (24,16; 58,30) p ₁₋₂ <0,05	76,14*# (40,00; 98,42) p ₂₋₃ <0,05	108,62***# (90,24; 240,35) p ₁₋₃ <0,01

Примечание: статистическая достоверность различий между группами: p – с группой контроля: p<0,05 – *; p<0,01 – **; p<0,001 – ***; p_{1,2,3} – сравниваемые группы; # – p<0,05 между группами пациентов с разными клиническими формами глаукомы (ПОУГ и ПЗУГ)

Однако уровень комплексов MMP-9/TIMP-I и MMP-9/TIMP-II был умеренно повышен (p<0,05). При II стадии ПЗУГ продукция эндопротеазы и ее комплексов с тканевыми ингибиторами I и II типа значимо увеличена (в 2– 3 раза по сравнению с I стадией ПЗУГ). При III стадии ПЗУГ локальный уровень этих медиаторов еще нарастает (в 1,5– 2,5 раза по сравнению со II стадией ПЗУГ).

Следует отметить, что независимо от стадии ПЗУГ количество TIMP-I в слезной жидкости изменялось мало (табл. 2) и не отличалось от контрольных величин.

Сравнительный анализ локального уровня MMP-9, ее комплексов с TIMP-I и TIMP-II, а также отдельно тканевого ингибитора I типа у пациентов с ПОУГ и ПЗУГ позволил констатировать, что более выраженные нарушения в системе острофазных белков,

регулирующих состояние внеклеточного матрикса, отмечены при ПОУГ. У этой категории пациентов существенные сдвиги зарегистрированы уже при I (начальной) стадии. Повышение ММР-9 в слезной жидкости более 80,0 пг/мл можно рассматривать как дополнительный критерий ранней диагностики ПОУГ ($\chi^2=17,36$; $p<0,00001$, 2 ст. свободы), ее содержание повышено в 2,5–3 раза по сравнению с контролем и в 2–2,5 раза по сравнению с пациентами с ПЗУГ. В более продвинутых стадиях как ПОУГ, так и ПЗУГ локальный уровень ММР-9 статистически значимо нарастает ($p<0,05$), но при II стадии у пациентов с ПОУГ значения желатиназы Вв в среднем в 2 раза были выше, чем у лиц с ПЗУГ (табл. 1, 2). Только при III стадии глаукомы в обеих группах локальное содержание ММР-9 было существенно повышенным как по сравнению с более ранними стадиями болезни, так, особенно, по отношению к контролю (в 8–10 раз).

Установлены значимые отличия в уровне TIMP-I в группах пациентов с ПОУГ и ПЗУГ: у первых его уровень был снижен ($p<0,05$), а при ПЗУГ – не отличался от референсных величин. На этом фоне при I стадии было зафиксировано, что локальное содержание комплексов ММР-9 с TIMP-I и ММР-9 с TIMP-II у пациентов с ПОУГ и ПЗУГ повышено. При этом на ранних стадиях их значения в этих группах пациентов не отличались. Тогда как на II и III стадиях болезни количественное содержание ММР-9/TIMP-I и ММР-9/TIMP-II было статистически значимо повышенным при ПЗУГ.

Таким образом, у пациентов с глаукомой выявлены нарушения в системе металлопротеиназы-9 и ее тканевых ингибиторов I и II типа, характеризующиеся локальной гиперпродукцией ММР-9 и ее комплексов с TIMP-I и TIMP-II независимо от типа глаукомы, при недостатке свободного тканевого ингибитора I типа у пациентов с ПОУГ. Степень нарушений в системе металлопротеиназы-9 и ее тканевых ингибиторов сопряжена с тяжестью заболевания как при ПОУГ, так и при ПЗУГ, что свидетельствует о существенной роли нарушений межклеточного матрикса в патогенезе глаукомы. Повышение ММР-9 в слезной жидкости более 80,0 пг/мл можно рассматривать как дополнительный критерий ранней диагностики ПОУГ.

Список литературы

1. Балашова Л.М. Иммуногемостатические механизмы развития первичной открытоугольной глаукомы / Л.М. Балашова // Вестн. Офтальмол. – 1997. – том 113. - № 2. – С. 42-44.
2. Нестеров А.П. Патогенез и проблемы патогенетического лечения глаукомы / А.П. Нестеров // Клинич. офтальмол. – 2003. – Т. 4. - № 2. – С. 47-48.

3. Рукина Д.А. Значение матричной металлопротеиназы в патогенезе первичной открытоугольной глаукомы /Д.А. Рукина, А.В.Кириенко // Тихоокеанский мед. журн. – 2012. - № 3. – С. 41-43.
4. Mohammed F.F. Metalloproteinases, inflammation, and rheumatoid arthritis / F. Mohammed, D. Smookler, R. Khokha // Ann. Rheum. Dis. – 2003. – Vol. 62. – Suppl. (II). – P. 1143–1147.
5. S. Rönkkö, P. Rekonen, K. Kaarniranta et al. 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. Ophthalmology. – 2007. – Vol. 245. – P. 697–704.
6. Sternlicht M.D. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior / M. Sternlicht, Z. Werb // Annu. Rev. cell. Dev. Biol. – 2001. – Vol. 17. – P. 463–516.
7. Van den Steen Ph. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) / Van den Steen Ph. [et al.] // Critical. Reviews in Biochem. and Molec. Biologi.– 2002. – Vol. 37. - N 6. – P. 375–536.

Рецензенты:

Беседнова Н.Н., д.м.н., профессор ФГБУ «НИИЭМ имени Г.П. Сомова» СО РАМН, г. Владивосток.

Гвозденко Т.А., д.м.н., директор Владивостокского филиала ДНЦ ФПД СО РАМН-НИИ медицинской климатологии и восстановительной медицины, г. Владивосток.