

(101) Wpływ miejscowych analogów prostaglandyn na rogówkę – doniesienie wstępne

Topical prostaglandins influence over cornea – preliminary report

Joanna Wierzbowska, Andrzej Stankiewicz

Z Kliniki Okulistycznej Wojskowego Instytutu Medycznego w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Andrzej Stankiewicz

Summary: In the article the recent research on the biology of corneal stroma and biological impact of topical prostaglandin analogues on this tissue, were presented. The outcome of some studies, regarding influence of this class of antiglaucoma medication on central corneal thickness (CCT), were included. The impact of CCT on the readings of intraocular pressure and the aspect of diurnal fluctuations of CCT were also emphasized.

Słowa kluczowe: analogi prostaglandyn, grubość centralnej rogówki, metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej.
Key words: prostaglandin analogues, central corneal thickness, matrix metalloproteinases.

Analogi prostaglandyny $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) – uznane zarówno przez Europejskie (European Glaucoma Society), jak i przez Amerykańskie Towarzystwo Jaskry (American Glaucoma Society) za lek pierwszego rzutu obok beta-blokerów – stanowią dynamicznie rosnący z roku na rok segment leków w farmakoterapii jaskry. Są związkami najskuteczniej obniżającymi ciśnienie wewnątrzgałkowe (o 25-35%) przy pojedynczej aplikacji leku na dobę i wysokim profilem bezpieczeństwa ogólnego. Według danych IMS z 2006 roku ich udział na rynku leków przeciwnaskrowych na świecie sięga już 38%; w Europie analogi $PGF_{2\alpha}$ są przepisywane równie często jak beta-blokery (31% v. 32%), a w USA – nawet częściej (38% v. 32%).

Głównym mechanizmem działania analogów $PGF_{2\alpha}$ jest stymulacja i/lub produkcja metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) mięśnia rzęskowego: MMP-1, MMP-2, MMP-3 i MMP-9, a także następowa przebudowa istoty pozakomórkowej. Polega ona na fragmentacji kolagenu typu I i III, obniżeniu zawartości kolagenu III i IV, „rozgałęzieniu” kolagenu IV i lamininy oraz redukcji zawartości białka TIGR, zawartego w błonie podstawnej macierzy zewnątrzkomórkowej (na skutek zmniejszenia ekspresji genu TIGR/MYOC). Ten farmakologiczny „wash-out” istoty pozakomórkowej prowadzi do poszerzenia przestrzeni pomiędzy podłużnymi wiązkami włókien mięśnia rzęskowego i zwiększenia odpływu cieczy wodnistej drogą naczyniówkowo-twardówkową. W znacznie mniejszym stopniu analogi $PGF_{2\alpha}$ przyczyniają się również do obniżenia oporu odpływu i zwiększenia odpływu cieczy wodnistej drogą konwencjonalną, w następstwie zmiany kształtu i/lub wielkości elementów kurczliwych obecnych w komórkach utkania beleczkowego.

Swoją biologiczną aktywność analogi $PGF_{2\alpha}$ rozpoczynają wraz z przyłączeniem się do receptorów klasy FP, głównie do izoforny FP_{α} , której stymulacja prowadzi do kaskady reakcji molekularnych. Obejmuje ona zwiększenie stężenia fosforanu inozytolu, aktywację kinazy białkowej C, uwolnienie wewnątrzkomórkowego wapnia, ale przede wszystkim indukcję tzw. jądrowego czynnika transkryp-

cji c-Fos i c-Jun (ang. nuclear transcription factor), co prowadzi do zmiany ekspresji genów MMP i na końcu do biosyntezy enzymów proteolitycznych. Dodatkowym efektem aktywacji receptora FP jest zmiana kształtu komórki i jej cytoszkieletu – obkurczenie filopodiów, „zaokrąglenie” komórek, tworzenie włókien aktyny oraz zależny od dawki skurcz lub rozkurcz mięśnia rzęskowego (1).

Badania immunohistochemiczne wykazały obecność receptorów FP_{α} nie tylko w obrębie mięśnia rzęskowego, ale także w rogówce, nabłonku spojówki i tęczówki, w zwieraczu źrenicy i w komórkach trabekulum. Z kolei badania z wykorzystaniem technik immunofluorescencyjnych pozwoliły stwierdzić obecność MMP także w innych, poza mięśniem rzęskowym, strukturach gałki ocznej: w rogówce, twardówce, nasadzie tęczówki, w kanale Schlemma, w obwódce rzęskowej, w komórkach zwojowych siatkówki i części pozabłaskowej n. II. Badania nad farmakokinetyką miejscowych analogów $PGF_{2\alpha}$ wykazały wyraźną dystrybucję substancji aktywnej do tęczówki, ciała rzęskowego i przedniej części twardówki. Po 15 minutach od podania latanoprostu do worka spojówkowego królika około 8% podanej dawki znajduje się w nabłonku rogówki, która wydaje się pełnić rolę magazynu, stopniowo uwalniając substancję aktywną do przedniego segmentu gałki ocznej.

Wobec powyższych faktów, biologiczne oddziaływanie miejscowych analogów $PGF_{2\alpha}$ na inne tkanki oka wydaje się prawdopodobne. Badania ostatnich lat wykazały, że dodatkowymi efektami miejscowej terapii analogów $PGF_{2\alpha}$ mogą być: ścięczenie rogówki, zwiększenie przepuszczalności twardówki, hamowanie bliznowacenia podspojówkowego, działanie antyoksydacyjne i być może neurotroficzne.

Ferreira (2) po 8 tygodniach terapii analogami $PGF_{2\alpha}$ stwierdził niewielkie, ale istotne statystycznie zmniejszenie grubości centralnej rogówki (ang. central corneal thickness, CCT): 548 v. 543 nm dla latanoprostu, 538 v. 532 nm dla travoprostu oraz 544 v. 540 nm dla bimatoprostu. Również Pathak-Ray (3), wykorzystując pachymetrię ultradźwiękową oraz mierząc histerezę rogówki za pomocą bezkontaktowego Reichert Ocular Re-

sponse Analyzer, stwierdziła zmniejszenie CCT (542 v. 533 nm) oraz histerezy rogówki (5,29 v. 4,65 mmHg) po 2 miesiącach leczenia analogami PGF_{2α}. Z kolei Arcieri (4) ścieńczenie centralnej rogówki o 0,59% na miesiąc zauważył tylko w oczach leczonym bimatoprestem, nie notował zaś zmian w oczach leczonym travoprestem i latanoprestem. Booth (5) nie zaobserwował wpływu latanoprostu na CCT po 2 miesiącach terapii (542 v. 539 nm), a Lass (6) po rocznym leczeniu latanoprestem, timolelem lub kombinacją tych dwóch leków nie stwierdził ani istotnych zmian CCT, ani istotnych różnic pomiędzy grupami (-1,1 v. -0,2 v. -1,0%). Ciekawych spostrzeżeń dostarczyły badania Viestenza (7). Statystycznie niższe wartości CCT obserwowano w oczach leczonych analogami PGF_{2α} w monoterapii niż w oczach leczonych miejscowymi inhibitorami anhidazy węglanowej lub ich kombinacją z analogami PGF_{2α} (529 v. 561 v. 555 nm).

Rogówka jest nieunaczynioną, wysoce zorganizowaną tkanką posiadającą unikalną cechę – przezroczystość. Największą część rogówki stanowi stroma, złożona z macierzy zewnątrzkomórkowej zawierającej zbudowane z kolagenu typu I i V włókna o przekroju 25-35 nm, łączące się w równoległe pęczki, a następnie w ortogonalne blaszki o różnej szerokości i grubości. Jak wykazały badania z wykorzystaniem najnowszej techniki dwu-fotonowej mikroskopii konfokalnej (two-photon generated second-harmonic signals imaging microscopy, SHIM), geometria blaszek kolagenowych różni się w przedniej i tylnej części stromy. W przedniej części zrębu rogówki blaszki kolagenowe układają się bardziej falście, miejscami przeplatają się i rozgałęziają lub biegną poprzecznie, wnikając w błonę Bowmana, podczas gdy w środkowej i tylnej części układają się bardziej równoległe do powierzchni rogówki. Wiąże się z tym implikacje biomechaniczne rogówki. Przednie 100-130 nm zrębu rogówki nadaje jej sztywność i krzywiznę, podczas gdy część tylna, różniąca się dodatkowo składem proteoglikanów i gęstością keratocytów, jest mechanicznie słabsza. Dla utrzymania właściwej architektury tkanki rogówkowej i jej przezroczystości niezbędna jest prawidłowa degradacja i przebudowa podstawowych składowych macierzy zewnątrzkomórkowej, tj. kolagenu typu I, III i V oraz proteoglikanów. W procesach tych uczestniczą, produkowane przez keratocyty, gelatinyzy: MMP-2 (odpowiedzialna za przebudowę zrębu) oraz MMP-9 (odpowiedzialna za degradację i resyntezę błony podstawnej nabłonka). Ich aktywność jest regulowana przez tkankowe inhibitory metaloproteinaz (TIMP): TIMP-1 i TIMP-2, oraz cytokiny: IL-1 i TGF-beta (odpowiednio zwiększające i zmniejszające aktywność MMP).

Badania ostatnich lat wykazały, że ekspresję MMP w rogówce zwiększają: niesterydowe krople przeciwzapalne (diklofenak), fluorochinolony (ciprofloxacyna, ofloxacyna i lewofloxacyna) oraz niektóre leki przeciwjaskrowe: analogi PGF_{2α}, alfa-beta-blokery, alfa₁-blokery oraz alfa₂-mimetyki (8, 9).

W badaniach *in vitro* stwierdzono, że latanoprost może indukować morfologiczne i biochemiczne zmiany w hodowli komórek zrębu rogówki świni, zmieniając w nim dystrybucję kolagenu typu I (10). Liu i wsp. (11) zauważyli, że latanoprost pobudza receptor FP obecny w nabłonku i zrębie ludzkiej rogówki, co z kolei prowadzi do aktywacji dwóch ścieżek przemian molekularnych: tzw. ścieżki białka Gq (ang. protein Gq pathway), skutkującej wzrostem koncentracji wewnątrzkomórkowego wapnia, oraz ścieżki Rho (ang. Rho signaling pathway), odpowiedzialnej z kolei za produkcję włókien aktyny i zaokrąglenie komórek. Efektami tych przemian są zwiększenie kurczliwości fibro-

blastów rogówki i wzrost zawartości kolagenu typu I przedniej stromy, co z kolei wpływa na zmianę kształtu rogówki i jej centralnej grubości. W tej samej pracy autorzy wykazali, że latanoprost nie wpływa na degradację kolagenu stromy rogówki poprzez indukcję sekrecji MMP przez fibroblasty ani nie wykazuje cech cytotoksyczności wobec nich. Także w biopatach przyrąbkowej spojówki oczu leczonych latanoprestem stwierdzano inną niż w oczach leczonych timolelem zawartość kolagenu i mniejszą grubość nabłonka. Badania Colliera (12) z kolei udowodniły, że ścieńczenie rogówki nie musi być równoznaczne z aktywnością MMP, np. w stożku rogówki główny udział w degradacji tkanki mają inne proteazy, katepsyny B i G.

W interpretacji zmian grubości rogówki, poza złożonym procesem molekularnego oddziaływania analogów PGF_{2α} na stromę rogówki, nie wolno pominąć wpływu czasu stosowanego leczenia, ewentualnych zmian metabolizmu leku, biologicznego wpływu leków na nabłonek i śródbłonek rogówki, naturalnych zmian właściwości biomechanicznych rogówki i CCT, związanych z wiekiem, oraz fluktuacji dobowych CCT.

Badania nad farmakodynamiką lipidów hipotensyjnych wykazały, że systematyczne stosowanie analogów PGF_{2α} nie prowadzi do indukcji lub hamowania ich metabolizmu ani do kumulacji substancji aktywnej lub jej metabolitów. Farmakokinetyka tych związków jest taka sama zarówno po pojedynczej dawce, jak i po systematycznym podawaniu leku. Badania fluorofotometryczne wykazały, że analogi PGF_{2α} nie naruszają ani bariery nabłonkowej, ani śródbłonkowej rogówki (13). We wspomnianych wcześniej badaniach Lassa (6) roczna terapia latanoprestem nie wiązała się z utratą komórek śródbłonka ani z obrzękiem rogówki.

Wraz z wiekiem dochodzi do zmian biomechanicznych właściwości rogówki na skutek wzrostu wymiaru włókien kolagenowych, zwiększenia ilości cząstek kolagenu, poszerzenia przestrzeni międzycząsteczkowych Bragga oraz zmian gradientu osmotycznego pomiędzy przestrzenią wewnętrzną i zewnętrzną włókien, wynikającego z involucyjnych zmian zawartości proteoglikanów w macierzy otaczającej włókna (14). Z wiekiem rogówka staje się cieńsza, co zauważył Wiezer (15) (o ok. 17-23 nm w ciągu 8 lat), a następnie potwierdziły 10-letnie prospektywne badania Blue Mountains Eye Study, przeprowadzone na populacji australijskiej powyżej 49. roku życia (542 v. 541 v. 537 v. 521 nm odpowiednio dla przedziałów wieku 60-69, 70-79, 80-89 i powyżej 90 lat) (16).

Uważana za „złoty standard” w badaniu ciśnienia wewnątrzgałkowego tonometria aplanacyjna Goldmanna w przypadku innej niż 520 nm grubości centralnej rogówki wymaga rekalkulacji odczytu poprzez zastosowanie tzw. formuły korekcji, wynoszącej od ±0,28 do ±0,7 mmHg na każde ±10 nm odchylenia CCT. Zdaniem niektórych autorów odpowiednią rekalkulację odczytu należy również zastosować w przypadku większości technik nieinwazyjnych, np. ± 0,38 mmHg/±10 nm dla pneumatometru oraz ±0,46 mmHg/±10 nm dla tonometru bezkontaktowego. Odczyt tonometryczny, niezależnie od zastosowanej techniki, może być zmieniony przez podlegające rytmom dobowym właściwości biomechaniczne rogówki, np. wzrost uwodnienia rogówki nocą (17, 18).

Większość dotychczasowych prac traktowała CCT jako parametr „statyczny”, niepodlegający rytmom dobowym. Ostatnie badania dostarczają nowych danych na ten temat. I tak zdaniem Fogagnolo (19) fluktuacje dobowe CCT u chorych z jaskrą pierwotnie otwartego kąta wynoszą średnio 16,5 nm (zakres od 6 do 31 nm), podobne wyniki notowali Kida i wsp. (17) (14,3 nm).

Autorzy ostatniej pracy wykazali również, że rogówka jest najgrubsza w godzinach nocnych, między godz. 1.30 a 5.30, jednak najwyższe wartości CCT (o godz. 1.30 w nocy) wyprzedzały o kilka godzin szczytowe wartości ciśnienia wewnątrzgałkowego (o godz. 5.30). Zakres dobowej fluktuacji CCT, odpowiadający, po uwzględnieniu formuły korekcji dla pneumotonometru, zmianie ciśnienia wewnątrzgałkowego wynoszącej 0,66 mmHg, pozostaje praktycznie bez wpływu na całkowity zakres dobowych fluktuacji ciśnienia wewnątrzgałkowego wynoszący 1,9 mmHg.

CCT wydaje się mieć istotny wpływ na ocenę skuteczności stosowanej miejscowej terapii hipotensyjnej. Zdaniem Brandta [20] w oczach z grubą rogówką należy spodziewać się mniejszej reakcji na zastosowane leczenie niż w oczach z prawidłową lub cienką rogówką. U podłoża tego zjawiska mogą leżeć: słabsza penetracja leku przez grubszą rogówkę do ciała rzęskowego i struktur utkania beleczkowego, mniej efektywna konwersja nieczynnego proleku w formę aktywną, a także większa sztywność tkanki, minimalizująca wielkość odczytu, zwłaszcza przy niższych wartościach ciśnienia wewnątrzgałkowego. Ten sam autor zaobserwował niższe wartości ciśnienia wewnątrzgałkowego w oczach z cienką rogówką po 4-6 tygodniach leczenia nieselektywnymi beta-blokerami lub analogami PGF_{2α}, jednocześnie nie notował różnic wpływu CCT na wielkość odczytu pomiędzy obydwoma grupami. Podobne wyniki obserwowali inni autorzy dla latanoprostu i brimonidyny.

Od opublikowania przed 3 latai wyników The Ocular Hypertension Treatment Study rola grubości centralnej rogówki, zarówno jako diagnostycznego, jak i prognostycznego czynnika w jaskrze, jest niepodważalna. Przypuszcza się, że grubość rogówki może być powiązana ze strukturą i biomechanicznymi właściwościami blaszki sitowej oraz grubością warstwy włókien nerwowych siatkówki.

Obserwowany w cytowanych pracach klinicznych wpływ analogów PGF_{2α} na grubość rogówki (średnia zmiana CCT do 11 nm) wydaje się nie mieć istotnego wpływu na rzeczywistą wartość ciśnienia wewnątrzgałkowego i tym samym na ocenę skuteczności hipotensyjnej tego segmentu leków. Konieczne są jednak dalsze badania, zarówno histochemiczne, jak i epidemiologiczne, z wykorzystaniem najnowszych technologii służących do jak najbardziej obiektywnej oceny CCT i ciśnienia wewnątrzgałkowego, w celu poznania struktury i dynamicznej biomechaniki rogówki oraz określenia wpływu stosowanych przewlekle leków przeciwjaskrowych na biologię tej tkanki.

PIŚMIENNICTWO:

- Weinreb R.N. et al.: *Effects of prostaglandins on the aqueous humor outflow pathways*. *Surv. Ophthalmol.*, 2002, 47 (Suppl.1), S53-S64.
- Ferreira J.D., Hatanaka M., Firmo G.A.: *Effect of Topically Administered Prostaglandin and Prostaglandin Analogs on Central Corneal Thickness* [abstrakt]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2003, 44, 4419.
- Pathak-Ray V. et al.: *Corneal Effects of Prostaglandin Analogues – Early Results* [abstrakt]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2005, 46, 2456.
- Arcieri E.S. et al.: *Effects of Prostaglandin Analogues on the Blood–Aqueous Barrier and Central Corneal Thickness of Phakic Patients With Primary Open Angle Glaucoma or Ocular Hypertension* [abstrakt]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2005, 46, 2454.
- Booth A.P., Pappas G., Achar A.: *The effect of Latanoprost on Central Corneal Thickness* [abstrakt]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2005, 46, 4558.

- Lass J.H., Eriksson G.L., Osterling L.: *Comparison of the corneal effects of Latanoprost, Fixed Combination Latanoprost-Timolol and Timolol. A Double-masked, randomized, one-year study*. *Ophthalmology*, 2001, 108, 264-271.
 - Viestenz A. et al.: *Impact of prostaglandin – F(2alpha) and carbonic anhydrase inhibitors on central corneal thickness – a cross-sectional study on 403 eyes*. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.*, 2004, 221, 753-756.
 - Ito T. et al.: *Effects of antiglaucoma drops on MMP and TIMP balance in conjunctival and subconjunctival tissue*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2006, 47, 823-830.
 - Revglio V.E. et al.: *Effect of topical nonsteroidal antiinflammatory drugs on the expression of matrix metalloproteinases in the cornea*. *J. Cataract Refract. Surg.*, 2003, 29, 989-997.
 - Wu K.Y., Wang H.Z., Hong S.J.: *Effect of latanoprost on cultured porcine corneal stromal cells*. *Curr. Eye Res.*, 2005, 30, 871-879.
 - Liu Y. et al.: *Effect of antiglaucoma drugs on collagen gel contraction mediated by human corneal fibroblasts*. *J. Glaucoma*, 2006, 15, 255-259.
 - Collier S.A.: *Is the corneal degradation in keratoconus caused by matrix metalloproteinases?* *Clin. Experimental Ophthalmol.*, 2001, 29, 340-344.
 - Ishibashi T. et al.: *Influence of latanoprost on the corneal epithelial barrier function in glaucoma patients*. *Ophthalmologica*, 2002, 216, 351-354.
 - Daxer A. et al.: *Collagen fibrils in the human corneal stroma: structure and aging*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 1998, 39, 644-648.
 - Weizer J.S., Stinnett S.S., Herndon L.W.: *Longitudinal changes in central corneal thickness and their relation to glaucoma status: an 8 year follow up study*. *Br. J. Ophthalmol.*, 2006, 90, 732-736.
 - Healey P.R. et al.: *Central corneal thickness in an older population: The Blue Mountains Eye Study* [abstrakt]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2005, 46, 3795.
 - Kida T., Liu J.H.K., Weinreb R.N.: *Effect of 24 hour corneal biomechanical changes on intraocular pressure measurement*. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2006, 47, 4422-4426.
 - Saleh T.A. et al.: *Effects of central thickness and corneal curvature on the intraocular pressure measurement by Goldmann applanation tonometer and ocular blood flow pneumatonometer*. *Clin. Experiment. Ophthalmol.*, 2006, 34, 516-520.
 - Fogagnolo P. et al.: *Circadian variation in central corneal thickness and intraocular pressure in patients with glaucoma*. *Br. J. Ophthalmol.*, 2006, 90, 24-28.
 - Brandt J.D. et al.: *Response to topical ocular hypotensive medication in the Ocular Hypertension Treatment Study*. *Am. J. Ophthalmol.*, 2004, 138, 717-722.
- Pozostałe piśmiennictwo u autorów.

Praca wpłynęła do Redakcji 24.09.2006 r. (897)
Zakwalifikowano do druku 24.10.2006 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr n. med. Joanna Wierzbowska
Klinika Okulistyczna
Wojskowy Instytut Medyczny
ul. Szaserów 128
00-909 Warszawa