

Wydajemy z myślą o Tobie

# UWAGA! NOWOŚĆ

VOLUMED sp. z o.o.

## Szanowni Państwo

VOLUMED ma przyjemność poinformować Państwa o II poprawionym i uzupełnionym wydaniu książki

autorstwa

prof. dr hab. Marii Hanny Nizankowskiej

pt.

# PODSTAWY OKULISTYKI

przewidywany termin ukazania się tytułu  
II półrocze 1999 roku

W podręczniku zostały przedstawione podstawy współczesnej wiedzy okulistycznej oraz najistotniejsze zagadnienia ważne dla specjalistów i lekarzy ogólnych. Dużym atutem książki są liczne kolorowe zdjęcia (ok. 550) oraz ryciny schematyczne. Książka jest skierowana przede wszystkim do lekarzy okulistów, lekarzy pierwszego kontaktu i studentów medycyny.

Podręcznik podzielony jest na 17 rozdziałów omawiających m.in. choroby: spojówek, siatkówki, rogówki, soczewki, jaskrę oraz farmakologiczne leczenie chorób oczu.

Format B5, ok. 400 stron, ok. 450 rycin, papier kredowy, oprawa twarda, foliowana

Dodatkowe informacje mogą Państwo uzyskać w biurze Wydawnictwa  
51-423 Wrocław, ul. Olsztyńska 3  
tel. (071) 325-35-61, tel./fax (071) 325-42-01



VOLUMED

Trzymaj reke na pulsie

## Prace doświadczalne

Klinika Oczna 1999, 101 (3): 167-168  
ISSN 0023-2157 Indeks 362 646

### Aktywność katepsyny A w ciele szklistym u chorych z jaskrą dokonaną i guzami wewnątrzgałkowymi

Cathepsin A activity in the vitreous body of patients with absolute glaucoma and intraocular tumors

Iwona Obuchowska<sup>1</sup>, Andrzej Stankiewicz<sup>1</sup>, Edward Bańkowski<sup>2</sup>

**Purpose:** To evaluate cathepsin A activity in the vitreous body of patients with absolute glaucoma and intraocular tumors.  
**Material and methods:** The studies were performed on human vitreous body taken from eye balls which were enucleated because of absolute glaucoma (18 eyes) and intraocular tumors (14 eyes). Cathepsin A activity was determined by the ninhydrin method with synthetic substrate (N-Cbz-Phe-Ala) at its optimum pH 5.0.  
**Results:** Cathepsin A activity in the human vitreous body in absolute glaucoma was twice as high as in intraocular tumors.  
**Conclusion:** Our results suggest that cathepsin A may participate in the pathogenesis of absolute glaucoma and that proteolysis may play a significant role in local destruction of the retina and the optic nerve.

**Słowa kluczowe:** katepsyna A, ludzkie ciało szkliste, jaskra dokonana, guzy wewnątrzgałkowe

**Key words:** cathepsin A, human vitreous body, absolute glaucoma, intraocular tumors

Ciało szkliste nie należy do tkanek o wysokiej aktywności biologicznej, a mimo to jego komórki oraz przestrzeń pozakomórkowa zawierają różne biologicznie czynne substancje, w tym także niektóre enzymy. Badania nad aktywnością proteolityczną bydłowego ciała szklistego wskazują na wysoką aktywność proteaz w kwaśnym zakresie pH, które odpowiada optimum pH działania katepsyn (7). Przypuszcza się, że ziarnistość hialocytów są lizosomami zawierającymi katepsyny, które biorą aktywny udział w patologii rozplywu ciała szklistego (5). Badania prawidłowego bydłowego ciała szklistego, mające na celu identyfikację poszczególnych enzymów, pozwoliły na wyodrębnienie spośród nich dwóch kwaśnych proteaz – katepsyn A i D (2, 3). Enzymy te przypuszczalnie odgrywają bardzo ważną

rolę w procesach starzenia się ciała szklistego i rozplywu jego zelu, a w przypadkach pierwotnych odwarstwień siatkówki mogą przechodzić z upłynionego ciała szklistego do przestrzeni podsiatkówkowej przez otwory w siatkówce (4). Wzrastająca aktywność enzymów proteolitycznych w płynie podsiatkówkowym może być ważnym czynnikiem prowadzącym do stopniowej degradacji struktury i funkcji odwarstwionej siatkówki.

Aktywność katepsyny D badano też w niektórych stanach patologicznych ludzkiego ciała szklistego, stwierdzając jej podwyższone wartości w przebiegu zapaleń i jaskry (6). Nie wykonywano jednak podobnych badań w odniesieniu do katepsyny A.

Biorąc pod uwagę powyższe dane, postanowiliśmy sprawdzić, czy katepsyna A ludzkiego ciała szklistego i związane z nią procesy proteolizy mogą uczestniczyć w mechanizmach patogenetycznych także innych chorób oka, takich jak: jaskra i guzy wewnątrzgałkowe.

#### Materiał i metodyka

Do badań użyto próbek ciała szklistego pochodzących z ludzkich gałek ocznych enukleowanych z powodu jaskry dokonanej i guzów wewnątrzgałkowych w Kli-

<sup>1</sup> Z Katedry i Kliniki Okulistyki AM w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. Andrzej Stankiewicz

<sup>2</sup> Z Zakładu Biochemii AM w Białymstoku  
Kierownik: prof. dr hab. Edward Bańkowski

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
Dr med. Iwona Obuchowska  
ul. Gruntowa 6c/19  
15-706 Białystok

nice Okulistyki AMB w latach 1994-1997. Łącznie przebadano 32 ciała szkliste – 18 w jaskrze dokonanej i 14 w guzach wewnątrzgałkowych. Wszystkie kliniczne rozpoznania przedoperacyjne potwierdzone zostały badaniami histopatologicznymi. W 13 przypadkach guzów rozpoznano czerniaka złośliwego naczyniówki, a w jednym – guz przerzutowy. Ciało szkliste zanieczyszczone krwią lub innymi tkankami eliminowano z badań.

Ciało szkliste homogenizowano w homogenizatorze Pottera w temperaturze 4°C 3×15 s z dodatkiem 0,2% Tritonu X-100. Do badań posłużył płyn nadosadowy uzyskany po odwirowaniu homogenatu w temperaturze 4°C przy 1500×g przez 30 minut. Aktywność katepsyny A mierzono metodą ninhydrynową przy użyciu syntetycznego substratu: N-karbobenzoksyl-L-fenylalaniny-L-alaniny (N-Cbz-Phe-Ala) w optimum pH 5,0. Mieszaninę złożoną z 0,25 ml substratu i 0,25 ml homogenatu tkanki inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny. Reakcję przerywano przez dodanie 1,25 ml 10% TCA (kwasu trójchlorooctowego). Próby kontrolne wytrącano kwasem w czasie zero. Po odwirowaniu próbek do 0,5 ml uzyskanego nadosadu dodawano 0,5 ml odczynnika ninhydrynowego i ogrzewano we wrzącej łaźni wodnej przez 20 minut. Po oziębieniu i dodaniu 2 ml mieszaniny n-propanol + woda (1:1, v.v.) mierzono absorpcję przy 570 nm. Ilość uwolnionego azotu  $\alpha$ -aminowego, będącego miarą aktywności enzymu, odczytywano z wykresu kalibracyjnego sporządzonego przy użyciu wzorcowych roztworów leucyny. W identyczny sposób śledzono degradację białek własnych badanego materiału, zastępując substrat – 0,1 M buforem octanowym. O aktywności katepsyny A wnoszono na podstawie różnicy przyrostu azotu  $\alpha$ -aminowego w próbach inkubowanych z substratem i bez.

## Wyniki

Aktywność katepsyny A stwierdzono we wszystkich próbkach ciała szklistego. Aktywność enzymu w ciele szklistym uzyskanych od pacjentów z jaskrą dokonaną prawie dwukrotnie przewyższała aktywność enzymu w ciele szklistym w przypadku czerniaka naczyniówki. Różnica ta jest znamienista statystycznie ( $p < 0,02$ ). Wartości aktywności katepsyny A w poszczególnych jednostkach chorobowych przedstawiono w tabeli I.

## Omówienie

Uzyskane przez nas wyniki aktywności katepsyny A w ludzkim ciele szklistym w przebiegu jaskry dokonanej i guzów wewnątrzgałkowych pokrywają się z wynikami podobnych badań innych autorów, dotyczących aktywności katepsyny D (6). W obu przypadkach aktywność proteolityczna ciała szklistego była około dwukrotnie wyższa w jaskrze, w stosunku do guzów wewnątrzgałkowych. Mimo że na podstawie przeprowadzonych badań trudno jest wypowiadać się o aktywności katepsyny A w ciele szklistym w przebiegu guzów naczyniówki, to widać wyraźnie, że w jaskrze dokonanej poziom enzymu w ciele szklistym jest podwyższony. Różnica ta jest znamienista statystycznie. Wzrost aktywności proteolitycznej katepsyny A w ciele szklistym w przebiegu długo trwającej jaskry może sugerować udział me-

Tabela I: Aktywność katepsyny A w ludzkim ciele szklistym mierzona przyrostem azotu  $\alpha$ -aminowego w pH 5,0 przy użyciu N-Cbz-Phe-Ala jako substratu  
Table I: Cathepsin A activity in the human vitreous body measured by the increase of  $\alpha$ -amino nitrogen at pH 5.0 with N-Cbz-Phe-Ala as a substrate

Ciało szkliste Vitreous body	Liczba próbek ciała szklistego No. of vitreous body samples	Katepsyna A ( $\mu\text{mol/ml/24 h}$ ) $\pm$ SD Cathepsin A ( $\mu\text{mol/ml/24 h}$ ) $\pm$ SD
Jaskra dokonana Absolute glaucoma	18	1,697 $\pm$ 0,110
Czerniak złośliwy naczyniówki Malignant melanoma of choroid	13	0,851 $\pm$ 0,072
Guz przerzutowy do naczyniówki Metastatic tumor of choroid	1	0,551

SD – odchylenie standardowe / standard deviation

chanizmów proteolizy w procesach prowadzących do uszkodzenia nerwu wzrokowego i siatkówki. Być może fotoreceptory i włókna nerwowe, narażone na wpływ podwyższonego ciśnienia śródgałkowego oraz przewlekłe niedokrwienie, ulegają powolnym procesom zwyrodnieniowym związanym z rozpadem ich struktury białkowej, w których to procesach uczestniczą enzymy proteolityczne.

Na podstawie przeprowadzonych badań nie można jednoznacznie ocenić źródła enzymu, ale należy przypuszczać, że katepsyna A obecna w ciele szklistym pochodzi zarówno z lizosomów hialocytów, jak i z lizosomów komórek siatkówki, a najbardziej prawdopodobnym jej źródłem jest nabłonek barwnikowy siatkówki (1, 3).

## Piśmiennictwo

- Burke J.M., Twinning S.S.: *Regional comparisons of cathepsin D activity in bovine retinal pigment epithelium*. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 1988, 29, 1789-1793.
- Galewska Z., Bańkowski E.: *Cathepsin D – a main proteolytic enzyme of the bovine vitreous*. Roczn. Akad. Med. Białymski, 1994, 39, 38-43.
- Obuchowska I., Stankiewicz A., Mariak Z.: *Cathepsin A activity of normal bovine ocular tissues and pathological human intraocular fluids*. Acta Bioch. Pol., 1996, 43, 687-692.
- Obuchowska I., Stankiewicz A., Mariak Z., Proniewska-Skrętek E.: *Aktywność katepsyny A w płynie podsiatkówkowym w pierwotnym odwarstwieniu siatkówki*. Klin. Oczna, 1997, 99, 83-85.
- Twinning S.S., Potts D., Burke J.M.: *Acid proteases of vitreal macrophages*. Curr. Eye Res., 1984, 3, 1055-1062.
- Wolańska M., Bakunowicz-Lazarczyk A.: *Białka ciała szklistego IV. Aktywność proteolityczna patologicznego ciała szklistego*. Klin. Oczna, 1992, 94, 44-45.
- Wolańska M., Galewska Z., Bańkowski E., Stankiewicz A.: *Aktywność proteolityczna ciała szklistego*. Klin. Oczna, 1995, 97, 173-175.

Praca wpłynęła do Redakcji 12 marca 1998 r. (657)

## Prace oryginalne

Klinika Oczna 1999, 101 (3): 169-173  
ISSN 0023-2157 Indeks 362 646

## Can the functional outcome in macular hole surgery be improved by internal limiting membrane maculorhexis?

Czy wyniki czynnościowe chirurgii otworów plamki mogą ulec poprawie po zastosowaniu techniki *maculorhexis* podczas usuwania błony granicznej wewnętrznej?

Wolfgang F. Schrader, Maria Schrenker

**Cel:** Mimo zastosowania środków wspomagających (adjuwantów), takich jak surowica, fibrynogen czy czynniki wzrostu, chirurgiczne leczenie zaawansowanych stadiów otworów plamki prowadzi zaledwie do ograniczonej poprawy czynnościowej. Rice oraz Eckardt przedstawili w ostatnim czasie technikę *maculorhexis* usuwania błony granicznej wewnętrznej, która pozwoliła na uzyskanie lepszych wyników czynnościowych. W obecnej pracy opisujemy nasze doświadczenia, związane z tą techniką.

**Materiał i metodyka:** Leczeniu poddano 38 chorych (39 oczu) z pełnościennymi otworami plamki w stadium 2-4 (wg Gassa). Wykonywano witrektomię przez *pars plana*, usuwano błony siatkówkowe, podawano gaz SF<sub>6</sub> i układano pacjentów w pozycji twarzą w dół przez osiem dni. U 30 chorych spośród 38 próbowano usunąć błonę graniczną wewnętrzną, stosując opisaną przez Rice'a i Eckarda technikę *maculorhexis*.

**Wyniki:** W 26 spośród 30 oczu usunięto błonę graniczną wewnętrzną. W 24 z 26 przypadków osiągnięto całkowite zamknięcie otworu w plamce, co stwierdzono wzmikowo i przy użyciu tomografii laserowej (Heidelberg Retina Tomograph i/lub Ocular Coherent Tomography). Trzy miesiące po zabiegu w 14 spośród 26 przypadków stwierdzono poprawę ostrości wzroku co najmniej o 2 linie, podczas gdy tylko w dwójgu z 13 oczu, w których nie stosowano techniki *maculorhexis*, osiągnięto taką poprawę. Ostrość wzroku po zabiegu *maculorhexis* pozostawała w granicach  $\pm 2$  linii w 10 z 26 oczu, a w oczach operowanych bez *maculorhexis* w ośmiorgu z 13 oczu. Ostrość wzroku uległa pogorszeniu o więcej niż dwie linie odpowiednio w dwójgu oczach z 26 i w trojgu z 13. W ośmiorgu oczach spośród 13, w których nie udało się usunąć błony granicznej, brzegi otworu w plamce pozostawały usunięte.

**Wnioski:** Usunięcie błony granicznej wewnętrznej techniką *maculorhexis* pozwala na osiągnięcie sukcesu anatomicznego w ponad 90% przypadków i wydaje się prowadzić do znacznej poprawy pooperacyjnej ostrości wzroku bez konieczności dalszego stosowania środków wspomagających.

**Key words:** macular hole, internal limiting membrane, *pars plana* vitrectomy

**Słowa kluczowe:** otwór w plamce, błona graniczna wewnętrzna, witrektomia przez *pars plana*

## Introduction

It is widely accepted that tangential traction by contraction of myofibroblast-like cells on both surfaces of the internal limiting membrane is a major factor in the

development of macular holes (1, 4, 8, 16). From these findings one can conclude that it may be appropriate not only to peel all visible epiretinal membranes but also the – primarily not visible – internal limiting membrane to remove all contractile elements as the myofibroblasts on the membrane surface (2, 11).

Rice (13) described a technique of the removal of the inner retinal surface in macular surgery as an alternative to the application of platelet concentrates (5), autologous serum (15), growth factors (6) or tissue glue (14). The functional outcome of the different techniques are differing. However, they seem to be independent of the method used (7).

Universitätsaugenklinik, Würzburg, Germany

Reprint requests to (Adres do korespondencji)

Wolfgang F. Schrader  
Universitätsaugenklinik  
Josef-Schneider-Str. 11  
D-97080 Würzburg, Germany  
Tel. +49 931 2015610  
Fax +49 931 2012400  
e-mail: w.schrader@augenklinik.uni-wuerzburg.de