

## Aktywność wybranych metaloproteinaz w chorobach neurodegeneracyjnych ośrodkowego układu nerwowego na przykładzie otępienia i schizofrenii

### Activity of selected metalloproteinases in neurodegenerative diseases of the central nervous system as exemplified by dementia and schizophrenia

Aneta Tylec<sup>1</sup>, Maciej Skałeczki<sup>2</sup>, Joanna Kocot<sup>3</sup>, Jacek Kurzepa<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, II Klinika Psychiatrii i Rehabilitacji Psychiatrycznej

<sup>2</sup> Samodzielny Publiczny Psychiatryczny Zakład Opiekuńczo-Lecznicy w Celejowie

<sup>3</sup> Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra i Zakład Chemii Medycznej

#### Summary

**Aim.** The aim of the study was to determine and analyze the correlation between the concentrations of selected metalloproteinases and their inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in patients with dementia and schizophrenia.

**Method.** The concentration of two collagenases and metalloendopeptidase was determined in the study. The study included 29 patients with late onset dementia, 25 patients with paranoid schizophrenia and 25 healthy controls who were age-matched with the study groups. Symptoms of dementia were evaluated using the Short Mental State Assessment Scale, whereas the symptoms of schizophrenia were assessed using the Positive and Negative Assessment Scale. Blood samples were collected from the participants and the concentrations of MMP-1, MMP-7, MMP-13, TIMP-1, and TIMP-2 in the blood serum were evaluated using ELISA method.

**Results.** A two-fold increase in the concentration of MMP-1 and a slight increase in MMP-13 was observed in dementia patients compared to other groups, as well as a lower level of MMP-7 and TIMP-1 and a higher level of TIMP-2 compared to the control group. Patients with schizophrenia showed lower MMP-7 and higher TIMP-2 serum level compared to the controls. No differences in the concentration of MMP-1, MMP-13 and TIMP-1 levels were noticed. In people with late onset dementia an increase in collagenolytic activity was demonstrated.

**Conclusions.** Increase in collagenolytic activity may indicate an increased remodeling within the central nervous system in late onset dementia. The difference in the fluctuation of the concentrations of the studied enzymes and their inhibitors in dementia and schizophrenia indicates their different involvement in the pathogenesis of these disorders.

**Słowa kluczowe:** metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej, tkankowy inhibitor metaloproteinazy, choroba neurodegeneracyjna

**Key words:** extracellular matrix metalloproteinase, tissue metalloproteinase inhibitor, neurodegenerative disease

## Wstęp

Macierz pozakomórkową (*extracellular matrix*, ECM) wszystkich tkanek i narządów ludzkiego organizmu stanowią: kolagen, elastyna, glikoproteiny, proteoglikany i glikozaminoglikany. Skład macierzy zależy od rodzaju tkanki [1]. Głównymi komponentami ECM ośrodkowego układu nerwowego (OUN) są proteoglikany chondroitynosiarczanowe i glikozaminoglikan (kwas hialuronowy) [2]. Macierz pozakomórkowa ulega przebudowie zarówno podczas procesów fizjologicznych (embriogeneza, ciąża i połóg, cykliczne zmiany endometrium, angiogeneza, gojenie ran, agregacja płytek), jak i patologicznych (procesy: zapalny, degeneracyjny i nowotworzenia) [1]. W procesach degradacji i odtwarzania strukturalnych składników macierzy uczestniczy wiele enzymów proteolitycznych [3]. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (*matrix metalloproteinase*, MMP) degradują białka macierzy zewnątrzkomórkowej i białka adhezyjne oraz uczestniczą w przekazywaniu sygnałów międzykomórkowych [1]. W zależności od rodzaju substratów i lokalizacji wyodrębnia się sześć podrodzin metaloproteinaz: kolagenazy (MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18), żelatynazy (MMP-2, MMP-9), stromielizyny (MMP-3, MMP-10, MMP-11), matrylizyny (MMP-7, MMP-26), MMP błonowe oraz inne enamelizyny – MMP-20, metaloelastazy – MMP-12 [4]. Na aktywność metaloproteinaz wpływają inhibitory: swoiste i nieswoiste (osoczowe inhibitory – alfa2-makroglobuliny oraz alfa1-antyproteazy) [5], jednak w największym stopniu regulują ją cztery naturalne tkankowe inhibitory MMP (TIMP). TIMP to małe białka blokujące aktywne centrum metaloproteinaz [6]. TIMP odgrywają ważną rolę w procesach regeneracyjnych OUN [7].

W embrionalnym i postnatalnym rozwoju OUN uczestniczą MMP uwalniane przez komórki rezydentne (astrocyty, oligodendrocyty, mikroglej i neurony) oraz napływowe (limfocyty, granulocyty i makrofagi). Potwierdzają to wyniki badań dynamiki zmian ekspresji mRNA i metaloprotein [8]. Ponadto MMP uczestniczą w procesach wewnątrzkomórkowego przekazu informacji, regulacji wzrostu, proliferacji i apoptozy. Biorą też udział w wydłużaniu i rozgałęzianiu wypustek nerwowych (MMP-9, MMP-2, MMP-3, MMP-7 i MT5-MMP) oraz w migracji komórek [9]. Aktywacja MMP w obrębie OUN prowadzi do rozwoju procesu zapalnego w patomechanizmie infekcyjnym i nieinfekcyjnym. Do przenikania elementów morfotycznych krwi do tkanki nerwowej dochodzi w sposób bezpośredni – poprzez przerwanie ciągłości bariery krew–mózg [10], albo pośredni – przez stymulację komórek śródbłonka naczyń mózgowych i uwalnianie rozpuszczalnej formy pierwszej cząstki adhezyjnej śródbłonka naczyniowego (*vascular cell adhesion molecule 1*; VCAM-1) [11]. Wyjątek stanowią obszary OUN pozbawione bariery krew–mózg. Należą do nich narządy okołokomorowe: tylny płąt przysadki mózgowej, naczyniowa blaszka krańcowa, podsklepieniowa, podspoidłowa, pole najdalsze oraz szyszynka i spłoty naczyniowe

komór [12]. Istotną rolę w nadmiernej aktywacji MMP odgrywa proteoliza białek ECM [10], a zmiana ich struktury wpływa na plastyczność synaps, neuronów i komórek gleju OUN. Plastyczność mózgu to zdolność do strukturalnej i funkcjonalnej reorganizacji sieci neuronalnych w odpowiedzi na bodźce zewnętrzne, która pozwala na adaptację organizmu do zmieniającego się środowiska (poprzez proces uczenia się i pamięci). Zjawisko neuroplastyczności jest niezbędne w procesie zdrowienia w przebiegu chorób OUN o różnych patomechanizmach, w tym po urazach. Zmiany te dotyczą regulacji na poziomie molekularnym (ekspresja genów, dostępność i funkcje białek) poprzez wpływ na fizjologię komórek po efekt w postaci zmian w zachowaniu człowieka. Zmiany plastyczności synaptycznej mogą przyczyniać się do rozwoju stanów patologicznych (np. padaczka, uzależnienie od substancji psychoaktywnych, zaburzenia ze spektrum autyzmu, schizofrenia, depresja) lub niwelować niekorzystne skutki zmian patologicznych (np. stwardnienie rozsiane, choroba Parkinsona, pogorszenie funkcji poznawczych, choroba Alzheimerera) [13, 14].

Metaloproteinazy, w tym między innymi MMP-1 i MMP-7 degradują podstawowe białko mielinowe (*myelin basic protein*, MBP). Konsekwencją tego jest rozkład osłonki mielinowej i odsłonięcie immunogennych epitopów, które wzmagają odpowiedź autoimmunologiczną, nasilając tym samym zainicjowany proces destrukcji osłonki mielinowej [15]. Metaloproteinazy wpływają również na cytokiny oraz chemokiny [16], uczestniczą w tworzeniu i destabilizacji blaszki miażdżycowej (MMP-1, -2, -3, -7, -9) [17], co zmniejsza dopływ krwi do mózgu i prowadzi do rozwoju różnego rodzaju stanów patologicznych OUN [18].

## Cel

Celem pracy była analiza stężeń dwóch kolagenaz MMP-1 i MMP-13 (substratami są: kolagen typu I, II, III, V, VII, VIII i X, żelatyna, etaktyna, agrekan) oraz matrylizyny MMP-7 (traw: kolagen typu IV, X, żelatynę, lamininę; wpływa na aktywność innych MMP) w surowicy osób leczonych z powodu zespołu otępiennego o późnym początku i schizofrenii paranoidalnej oraz u osób z grupy kontrolnej. W obu badanych grupach i w grupie kontrolnej oznaczono również stężenie TIMP-1 i TIMP-2.

## Material i metoda

### *Grupy badane*

Osoby uczestniczące w badaniu wyraziły zgodę na jego przeprowadzenie. Na realizację projektu uzyskano także zgodę Komisji bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie.

Badaniem objęto grupę 54 osób leczonych przewlekle w psychiatrycznym zakładzie opiekuńczo-leczniczym: 29 z powodu zespołu otępiennego o późnym początku oraz 25 z powodu schizofrenii paranoidalnej. W przypadku pacjentów z zespołem otępiennym jako przyczynę otępienia u 17 z nich wskazano chorobę Alzheimerera, a w pozostałych przypadkach – podłoże naczyniowe. Wszyscy pacjenci – zarówno

z otępieniem o późnym początku, jak i ze schizofrenią paranoidalną – zostali poddani ocenie i zdiagnozowani przez co najmniej dwóch przeszkolonych psychiatrów, zgodnie z kryteriami diagnostycznymi zaburzeń psychicznych, opartymi na ustrukturyzowanym wywiadzie klinicznym dotyczącym zaburzeń I osi DSM-5 (SCID-I) [19] i ICD-10 [20]. Z badania wykluczono osoby ze współistniejącymi zaburzeniami związanymi z nadużywaniem substancji psychoaktywnych lub upośledzeniem umysłowym. Objawy zespołu otępiennego oceniono za pomocą krótkiej skali oceny stanu psychicznego (Mini-Mental State Examination, MMSE) [21], a schizofrenii paranoidalnej z zastosowaniem skali objawów pozytywnych i negatywnych (Positive and Negative Syndrom Scale, PANSS) [22]. Osoby leczone z powodu otępienia o późnym początku przyjmowały leki prokognitywne w pełnych dawkach: osiemnaście osób memantynę (antagonista receptora N-metylo-D-asparaginowego, NMDA), a dwanaście inhibitory cholinesterazy – dziesięć osób donepezil i dwie osoby riwastygminę. W omawianej grupie ośmiu pacjentów było poddanych polifarmakoterapii – memantyna z donepezilem, sześciu przyjmowało także olanzapinę w dawce 2,5-5 mg na dobę. Pacjenci z rozpoznaniem schizofrenii paranoidalnej poddani byli monoterapii atypowym neuroleptykiem: szesnaście osób przyjmowało olanzapinę (10-20 mg na dobę), sześć kłozapinę (400-600 mg na dobę), a trzy osoby risperidon (4-8 mg na dobę). Dawkę leku przeciwpsychotycznego przeliczono na ekwiwalent chlorpromazyny (CPZ). Poza tym żaden z pacjentów z obu grup nie był poddany farmakoterapii z żadnego innego powodu, jak również nie używał nikotyny.

Grupę kontrolną stanowiło 25 osób bez zaburzenia psychicznego, zgodnych wiekowo z jedną z badanych grup. Charakterystykę badanych grup przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka grup pacjentów i grupy kontrolnej

	Otępienie o późnym początku	Schizofrenia paranoidalna	Grupa kontrolna	Analiza statystyczna
n	28	25	25	-
Płeć (M/K)	9/19	12/13	11/14	p>0,05 (Chi2 test)
Wiek (średnia ± SD)	75,5 ± 10,1	61,6 ± 8,9	65,3 ± 4,8	p<0,001 (ANOVA)
Czas trwania choroby (średnia ± SD)	8,6 ± 4,1	32,6 ± 6,2	NA	NA
PANSS	NA	111,9 ± 21,5	NA	-
PANSS objawy pozytywne	NA	22,8 ± 6,3	NA	-
PANSS objawy negatywne	NA	32,9 ± 7,1	NA	-
PANSS objawy ogólne	NA	56,2 ± 11,4	NA	-
MMSE (min.-maks.)	8,8 (0 – 22)	-	NA	-
Dawka CPZ (mg) (średnia ± SD)		312 (83,7)	NA	

### *Metodologia badań biochemicznych*

Do jałowej próbki bez dodatku antykoagulantu pobrano krew żylną. Po utworzeniu skrzepu próbkę poddano procesowi wirowania, a następnie surowicę przeniesiono do próbek i umieszczono w temperaturze  $-70^{\circ}\text{C}$ . Do oznaczenia stężenia MMP-1, MMP-7, MMP-13 oraz TIMP-1, TIMP-2 w surowicy krwi zastosowano gotowe zestawy testów ELISA (R&D Systems, USA). Wszystkie procedury wykonano zgodnie z instrukcjami producenta testów. Każdej próbce krwi nadano podwójne oznaczenie. Wyniki odczytano przy użyciu czytnika mikroplątek Epot (BioTek, USA) przy długości fali 450 nm (korekcja 540 nm).

### *Statystyka*

Rozkład normalności określono za pomocą testu Lillieforsa. Analizy oznaczanych zmiennych w grupach badanych (otępienie o późnym początku i schizofrenia paranoidalna) w porównaniu z grupą kontrolną dokonano za pomocą jednokierunkowej analizy wariancji ANOVA, stosując test wielokrotnych porównań Tukeya-Kramera. Wyniki wyrażono jako średnia  $\pm$  odchylenie standardowe (SD). Różnice istotne statystycznie stwierdzono na poziomie istotności poniżej 0,05. Analizy bazy danych oraz statystyki przeprowadzono za pomocą programu komputerowego Statistica 12.0 (StatSoft, Polska).

### **Wyniki**

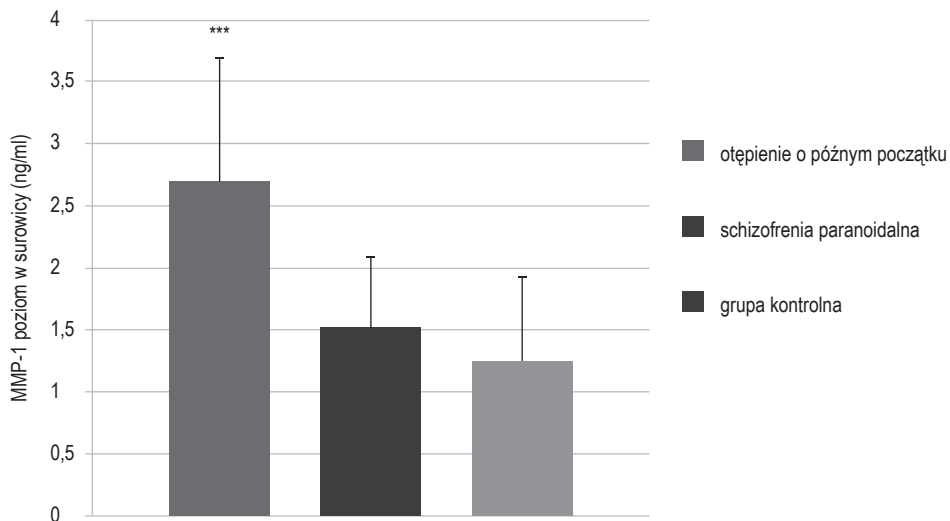
U osób z otępieniem o późnym początku zaobserwowano: dwukrotny wzrost stężenia MMP-1 i niewielki wzrost stężenia MMP-13 w porównaniu z osobami leczonymi z powodu schizofrenii paranoidalnej i osobami z grupy kontrolnej ( $p < 0,001$ ; ryc. 1 i 2) oraz niższe stężenie MMP-7 i TIMP-1 ( $p < 0,05$ ; ryc. 3 i 4) oraz wyższe stężenie TIMP-2 ( $p < 0,001$ ; ryc. 5) w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej.

Natomiast w grupie osób leczonych z powodu schizofrenii paranoidalnej w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej zaobserwowano niższe stężenie MMP-7 ( $p < 0,001$ ), wyższe stężenie TIMP-2 ( $p < 0,001$ ) i nie wykazano różnic w stężeniu MMP-1, MMP-13 i TIMP-1 (ryc. 1–5).

### **Omówienie wyników**

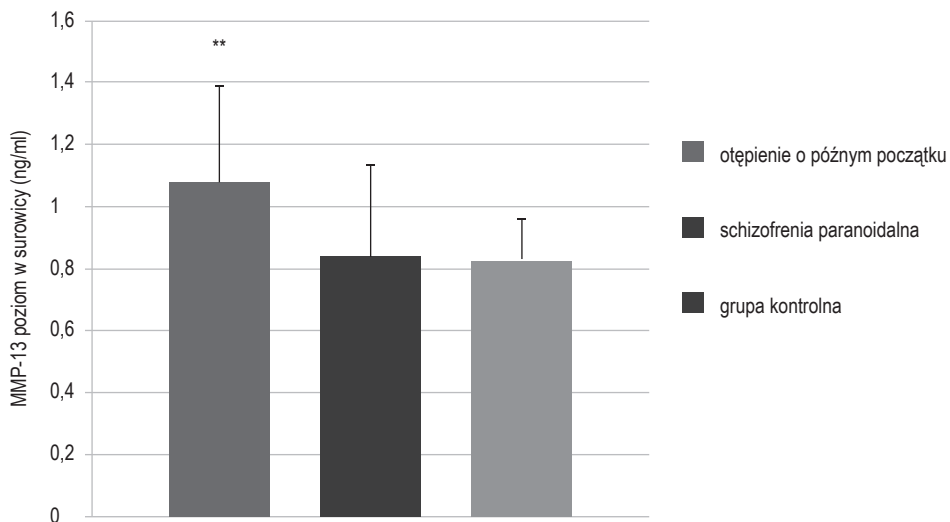
Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej odgrywają rolę w procesach patologicznych w obrębie OUN [16]. Coraz więcej dowodów wskazuje także na ich udział w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych [23], do których zalicza się zarówno otępienie, jak i schizofrenię.

Otępienie jest jednym z częściej występujących zaburzeń wieku podeszłego. Dotyczy około 10% populacji osób starszych. Zgodnie z wynikami badań histopatologicznych 60% przypadków otępień u osób powyżej 65. r.ż. stanowi choroba Alzheimera (Alzheimer's disease, AD). Postać naczyniopochodna otępienia to około 15%. Wydaje



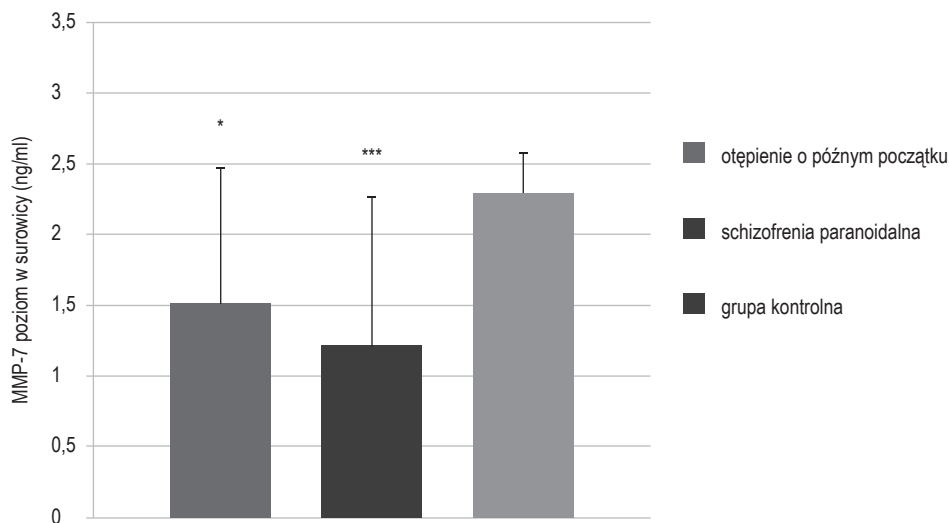
Rycina 1. Stężenie MMP-1 w surowicy krwi pacjentów z otępieniem o późnym początku i schizofrenią paranoidalną w porównaniu z osobami grupy kontrolnej

Wartości średnie i SD. ANOVA  $p < 0,0001$ ; test wielokrotnego porównania Tukeya-Kramera \*\*\*  $p < 0,001$  otępienie o późnym początku vs. grupa kontrolna i otępienie o późnym początku vs. schizofrenia paranoidalna



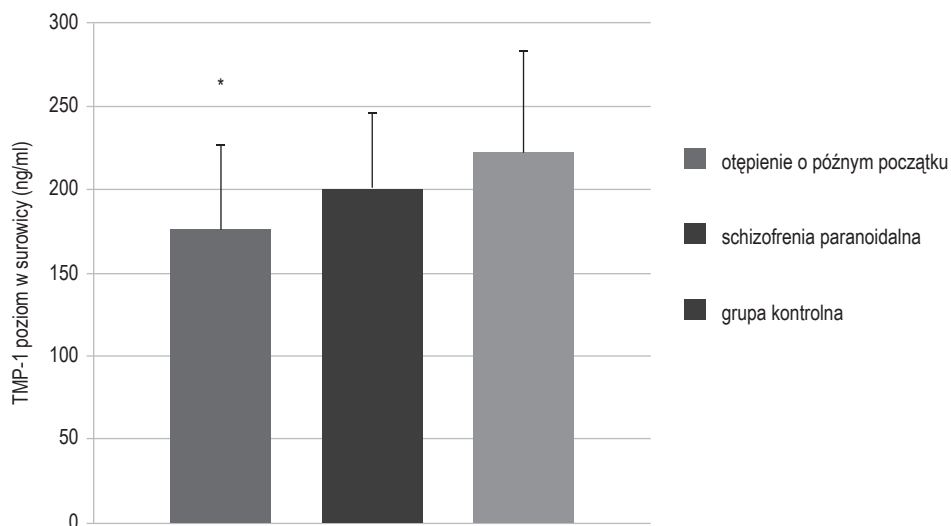
Rycina 2. Stężenie MMP-13 w surowicy krwi pacjentów z otępieniem o późnym początku i schizofrenią paranoidalną w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej

Wartości średnie i SD. ANOVA  $p = 0,0008$ ; test wielokrotnego porównania Tukeya-Kramera \*\*  $p < 0,01$  otępienie o późnym początku vs. grupa kontrolna i otępienie o późnym początku vs. schizofrenia paranoidalna



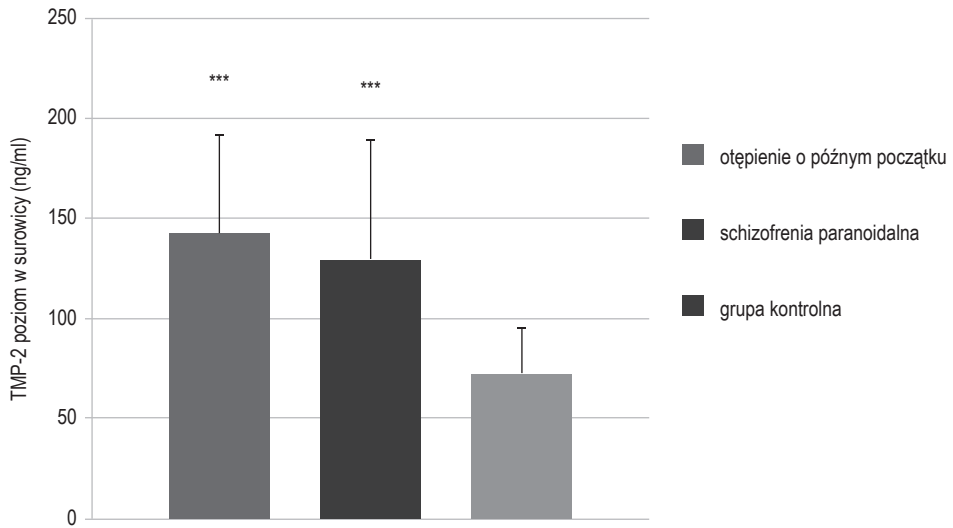
Rycina 3. Stężenie MMP-7 w surowicy krwi pacjentów z otępieniem o późnym początku i schizofrenią paranoidalną w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej

Wartości średnie i SD. ANOVA  $p = 0,0007$ ; test wielokrotnego porównania Tukeya-Kramera \*  $p < 0,05$  otępienie o późnym początku vs. grupa kontrolna, \*\*\*  $p < 0,001$  schizofrenia paranoidalna vs. grupa kontrolna



Rycina 4. Stężenie TIMP-1 w surowicy krwi pacjentów z otępieniem o późnym początku i schizofrenią paranoidalną w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej

Wartości średnie i SD. ANOVA  $p = 0,0135$ ; test wielokrotnego porównania Tukeya-Kramera \*  $p < 0,01$  otępienie o późnym początku vs. grupa kontrolna



Rycina 5. Stężenie TIMP-2 w surowicy krwi pacjentów z otępieniem o późnym początku i schizofrenią paranoidalną w porównaniu z osobami z grupy kontrolnej

Wartości średnie i SD. ANOVA  $p < 0,0001$ ; test wielokrotnego porównania Tukeya-Kramera \*\*\*  $p < 0,001$  otępienie o późnym początku vs. grupa kontrolna i schizofrenia paranoidalna vs. grupa kontrolna

się, że jest ona nadmiernie często diagnozowana, ponieważ wiele przypadków otępienia naczyniopochodnego w czasie autopsji okazuje się AD. Te dwie postaci otępienia w około 20% przypadków współlistnieją ze sobą [24]. Nadprodukcja MMP wiąże się z rozwojem wielu stanów patologicznych, między innymi AD [25].

Schizofrenia dotyczy około 1% populacji i najczęściej rozpoczyna się w okresie wczesnej adolescencji, choć ryzyko zachorowania rośnie ponownie po 45. roku życia, szczególnie w populacji kobiet [26]. Na początku XXI wieku powszechnie wskazywano na neurorozwojową hipotezę schizofrenii. W kolejnych latach wykazano nasilenie zmian degeneracyjnych w mózgu osób leczonych z powodu schizofrenii i wraz z nimi rozwój hipotezy neurodegeneracyjnej [27]. Niewątpliwie w zaburzeniach ze spektrum schizofrenii procesy neurodegeneracyjne nakładają się na te neurorozwojowe.

Zgodnie z teorią neurorozwojową w omawianym zaburzeniu psychicznym obserwuje się nieprawidłowy przebieg genetycznie zaprogramowanych procesów: migracji neuronów, tworzenia połączeń nerwowych i synaps (redukcja liczby i wielkości pęcherzyków synaptycznych, opóźnienie uwalniania ich zawartości) czy selekcji neuronów (neurony, które przeżywają, nie mogą migrować do właściwych rejonów mózgu i tworzyć połączenia). Natomiast hipoteza neurodegeneracyjna wskazuje na proces niszczenia synaps i wypustek nerwowych (aksonów i dendrytów) na skutek zaburzenia genetycznie zaprogramowanych procesów. Zdaniem części badaczy narastające zaburzenia kognitywne stanowią konsekwencję neurotoksycznego efektu działania psychozy oraz czynników zewnętrznych [28]. Postępujący proces degene-



racji neuronów i narastanie objawów rezydualnych (negatywnych) schizofrenii mogą wynikać z nadmiernego przekazywania w obrębie układu glutaminergicznego. Może prowadzić to do neurodegeneracyjnego i toksycznego wzbudzenia receptorów NMDA. Zgodnie z tą hipotezą proces patologiczny odpowiada za bezładną i toksyczną aktywację neuronów. Dochodzi wtedy do otwarcia kanałów wapniowych, wtórnej aktywacji enzymów wewnątrzkomórkowych i wytwarzania wolnych rodników. Wszystkie te czynniki mają toksyczny wpływ na błony komórkowe i struktury wewnątrzkomórkowe – prowadzą do powolnej neurodegeneracji OUN [29]. Na pierwotne deficyty kognitywne nakładają się wtórne zaburzenia funkcji poznawczych, co związane jest ze zjawiskiem ekscytotoksyczności i neurodegeneracji.

Wyniki badań neuroobrazowych osób z długoletnim przebiegiem choroby potwierdzają hipotezę neurodegeneracji: redukcja objętości istoty szarej, szczególnie w okolicy kory czołowej i wzgórza oraz istoty białej, głównie okolicy czołowej, skroniowej i ciemieniowej; poszerzenie komór bocznych oraz poszerzenie przestrzeni płynowych w okolicach czołowej, skroniowej i ciemieniowej [30]. Zmiany te korelują z osłabieniem funkcji poznawczych, natomiast w niewielkim stopniu wpływają na inne parametry kliniczne [31]. Wykazano korelacje pomiędzy schizofrenią a polimorfizmem niektórych metaloproteinaz i występowaniem ostrych objawów wytwórczych o charakterze zaburzeń treści myślenia [32–35] – między innymi wskazano na wzrost stężenia TIMP-1 [36], choć Jeffries i wsp. [37] nie potwierdzili takiej zależności.

Przeprowadzone przez autorów niniejszej publikacji badanie ma charakter innowacyjny, ponieważ w literaturze przedmiotu nie ma lub są nieliczne doniesienia dotyczące analiz stężenia wybranych metaloproteinaz (MMP-1, MMP-13 i MMP-7) oraz ich inhibitorów (TIMP-1 i TIMP-2) w odniesieniu do pacjentów leczonych z powodu otępienia bądź schizofrenii [12]. Niewiele badań dotyczy ekspresji kolagenazy 1 w OUN [38]. Te ostatnie wykazały immunoreaktywność MMP-1 w obrębie płatów węchowych, korze śródwęchowej, jądrach mostu oraz istocie szarej okołoprzewodowej [39], także w mózgu osób leczonych z powodu AD [40]. Wydaje się, że głównie komórki gleju odpowiadają za ekspresję MMP-1 [41], choć wskazuje się również na neurony [39]. MMP-1 zwiększa proliferację i różnicowanie neuronów z komórek macierzystych hipokampa [42]. Natomiast badania na modelu zwierzęcym wykazały, że jej zwiększone stężenie powoduje deficyty uczenia się i pamięci [43].

W niniejszym badaniu wykazano wyraźny wzrost stężenia MMP-1 w surowicy pacjentów z AD, co jest zgodne ze zwierzęcym modelem badań. Jednocześnie u pacjentów z AD wykazano wzrost stężenia kolagenazy MMP-13 oraz zmniejszenie stężenia TIMP-1, co sugeruje, że w tej grupie pacjentów zachodzą intensywne procesy modelowania białek istoty pozakomórkowej. MMP-1 w tkance mózgowej działa głównie poprzez: aktywację receptora aktywowanego proteinazą 1 (PAR 1), wzrost stężenia cytoplazmatycznego  $Ca^{2+}$ , także w płytkach krwi. Jeśli chodzi o kolagenazę 3, dotychczasowe badania dotyczyły analizy jej związku z PAR 1 w obrębie mięśnia sercowego. Podobnie jak badania nad kolagenazami ekspresja MMP-7 także nie znajduje wiele miejsca w literaturze przedmiotu badań. Komórki mikrogleju odpowiadają za ekspresję tej metaloproteinazy. Wyniki badań wskazują na wysokie stężenie matrylizyny w obrębie hipokampa, wzrost jej stężenia w: stwardnieniu rozsianym,

eksperymentalnym autoimmunologicznym zapaleniu mózgu i rdzenia, demencji czy w guzach mózgu. Wśród substratów MMP-7 w mózgu najważniejszymi są: czynnik wzrostu pronerowego (proNGF), SNAP-25, podjednostka NR1 receptora NMDA i glikoproteina związana z mieliną [13].

MMP-7 może bezpośrednio wpływać na funkcję receptora NMDA i sygnalizację w dół, co ma kluczowe znaczenie dla plastyczności synaptycznej. Ponadto zastosowanie rekombinowanego MMP-7 na końcach presynaptycznych hodowanych neuronów hipokampa zredukowało uwalnianą pulę pęcherzyków synaptycznych, zmniejszyło wielkość aktywnych stref i hamowało recykling pęcherzyków. Wpływ MMP-7 na zjawisko recyklingu pęcherzyków można częściowo wyjaśnić rozszczepieniem białka SAP-25 (białko związane z synaptosomem o masie 25 kDa), co zakłóca kompleks dokowania pęcherzyków [44].

Należy zauważyć, że pomimo niewielu danych w literaturze przedmiotu badań, także farmakoterapia chorób neurodegeneracyjnych OUN (neuroleptyki typowe, memantyna) wpływa na ekspresję genów metaloproteinaz i ich inhibitorów. Wykazano korelację pomiędzy dawką haloperidolu a ekspresją mRNA MMP-9 oraz TIMP-1, bez wpływu na MMP-2 w obrębie monocytów [45]. Zaobserwowano wpływ polimorfizmu MMP-9 i stopnia nasilenia wydarzeń traumatycznych w okresie dzieciństwa na odpowiedź na leczenie flupentiksolem w populacji osób z pierwszym epizodem schizofrenii [46]. W przypadku leków przeciwotępiennych wykazano, że memantyna zmniejsza ekspresję i aktywność MMP-2, nie wpływa na MMP-9 po niedokrwieniu czy reperfuzji komórek śródbłonna naczyń mózgowych oraz nasila ekspresję TIMP-2 [47].

Pewnym ograniczeniem niniejszej pracy jest różny wiek grup badanych. Pacjenci ze schizofrenią paranoidalną stanowili najmłodszą spośród analizowanych grup. Jednak wyniki dotychczasowych badań nie wskazują na istotną zależność pomiędzy wiekiem osób badanych a stężeniem metaloproteinaz bądź wskazują na taką zależność w przypadku analizy porównawczej ich stężenia w populacji osób bardzo młodych z osobami w starszym wieku [1, 48, 49].

W ostatnim czasie nastąpił wzrost wiedzy na temat właściwości i znaczenia metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w obrębie OUN. Modulowanie funkcji MMP może być obiecującym sposobem terapii chorób neurodegeneracyjnych. Oznaczanie tych białek w płynach ustrojowych może mieć duże znaczenie diagnostyczne, a stosowanie swoistych inhibitorów może prowadzić do zahamowania procesów neurodegeneracyjnych.

### Wnioski

1. U osób z zespołem otępiennym o późnym początku wykazano wzrost aktywności kolagenolitycznej, co może wskazywać na nasilenie zjawiska remodelingu w obrębie ośrodkowego układu nerwowego w tej grupie pacjentów.
2. Odmienność fluktuacji stężeń badanych enzymów oraz ich inhibitorów w zespole otępiennym oraz schizofrenii paranoidalnej wskazuje na ich różny udział w patogenie wyżej wymienionych zaburzeń.

### Piśmiennictwo

1. Kucharska A. *Stężenie metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej-9 (MMP-9) w schizofrenii i chorobach afektywnych a stan kliniczny i neuropsychologiczny*. Poznań: Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, 2016.
2. Csoka A, Sternr R. *Hypotheses on the evolution of hyaluronan: a highly ironic acid*. *Glycobiology* 2013; 23: 398–411.
3. Larsen M, Artym V, Green J, Yamada K. *The matrix reorganized: extracellular matrix remodeling and integrin signaling*. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2006; 18: 463–471.
4. Mott J, Werb Z. *Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases*. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2004; 16: 558–564.
5. Pastuszka E, Pabin A, Radkowski M. *Metalloproteinases in meningoencephalitis*. *Przegl. Epidemiol.* 2008; 62: 401–406.
6. Nagase H, Visse R, Murphy G. *Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs*. *Cardiovasc. Res.* 2006; 69: 562–573.
7. Chirco R, Liu X, Jung K, Kim H. *Novel functions of TIMPs in cell signaling*. *Cancer Metastasis. Rev.* 2006; 25: 99–113.
8. Leib S, Clements J, Lindberg R, Heimgartner C, Loeffler J, Pfister LA i wsp. *Inhibition of matrix metalloproteinases and tumour necrosis factor alpha converting enzyme as adjuvant therapy in pneumococcal meningitis*. *Brain* 2001; 124: 1734–1742.
9. VanSaun M, Matrisian L. *Matrix metalloproteinases and cellular motility in development and disease*. *Birth Defects Res. C. Embryo. Today* 2006; 78: 69–79.
10. Zalewska T, Ziemka-Nałęcz M, Sarnowska A, Domańska-Janik K. *Transient fore-brain ischemia modulates signal transduction from extracellular matrix in gerbil hippocampus*. *Brain Res.* 2003; 977: 62–69.
11. Hummel V, Kallmann B, Wagner S, Füller T, Bayas A, Tonn J i wsp. *Production of MMPs in human cerebral endothelial cells and their role in shedding adhesion molecules*. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001; 60: 320–327.
12. Wright J, Harding J. *The brain angiotensin system and extracellular matrix molecules in neural plasticity, learning, and memory*. *Prog. Neurobiol.* 2004; 72: 263–293.
13. Beroun A, Mitra S, Michaluk P, Pijet B, Stefaniuk M, Kaczmarek L. *Cellular and Molecular Life Sciences MMPs in learning and memory and neuropsychiatric disorders*. *Cellular and Molecular Life* 2019; 76: 3207–3228.
14. Bitanhirwea B, Woo T. *A conceptualized model linking matrix metalloproteinase-9 to schizophrenia pathogenesis*. *Schizophrenia Research* 2020. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.12.015>.
15. Svedin P, Hagberg H, Sävman K, Zhu C, Mallard C. *Matrix metalloproteinase-9 gene knock-out protects the immature brain after cerebral hypoxia-ischemia*. *J. Neurosci.* 2007; 27: 1511–1518.
16. Kurzepa J, Bartosik-Psujek H, Suchozebrska-Jesionek D, Rejdak K, Stryjecka-Zimmer M, Stelmasiak Z. *Role of matrix metalloproteinases in the pathogenesis of multiple sclerosis*. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2005; 39(1): 63–67.
17. Fic P, Zakrocka I, Kurzepa J, Stepulak A. *Metaloproteinazy w miażdżycy naczyń krwionośnych*. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2011; 65: 16–27.
18. Rodriguez-Feo J, Sluijter J, de Kleijn D, Paster-Kamp G. *Modulation of collagen turnover in cardiovascular disease*. *Curr. Pharm. Des.* 2005; 11: 2501–2514.

19. American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorder (5th ed.)*. Washington, DC: APA; 2013.
20. *Międzynarodowa Statystyczna Klasyfikacja Chorób i Problemów Zdrowotnych ICD-10, ICD-10*; Światowa Organizacja Zdrowia; 2009.
21. Foistein M, Foistein S, McHugh P. *MiniMental State: A practical method for grading and the cognitive state of patients for the clinician*. Journal of Psychiatric Research 1975; 12: 189–198.
22. Kay S, Oppler L, Fiszbein A. *The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for schizophrenia*. Schizophrenia Bull. 1986; 13: 261–276.
23. Wysocka A, Giziński S, Lechowski R. *Metalloproteinazy macierzy – ich struktura oraz znaczenie*. Życie Weterynaryjne 2014; 89(3): 34–45.
24. Small G. *Differential diagnosis and early detection of dementia*. Am. J. Geriatr. Psychiatry 1998; 6: 26–33.
25. Baker A, Edwards D, Murphy G. *Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities*. J. Cell. Sci. 2002; 115: 3719–3727.
26. Hafner H, Van der Heiden W, Behrens S, Gattaz W, Hambrecht M, Löffler W i wsp. *Causes and consequences of the gender difference in age at onset of schizophrenia*. Schizophr. Bull. 1998; 24: 99–113.
27. Murray R, Bhavsar V, Tripoli G, Howes O. *30 Years on: How the Neurodevelopmental Hypothesis of Schizophrenia Morphed Into the Developmental Risk Factor Model of Psychosis*. Schizophr. Bull. 2017; 43(6): 1190–1196.
28. Stahl S. *Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications*. Cambridge: Cambridge University Press; 2008.
29. Gargiulo P, Landa De Gargiulo A. *Glutamate and modeling of schizophrenia symptoms: Review of our Findings: 1990–2014*. Pharmacol. Rep. 2014; 66: 343–352.
30. Andreasen N, Nopoulos P, Magnotta V, Pierson R, Ziebell S, Ho B. *Progressive brain change in schizophrenia: a prospective longitudinal study of first-episode schizophrenia*. Biol. Psychiatry 2011; 70: 672–679.
31. Andreasen N, Liu D, Ziebell S, Vora A, Ho B. *Relapse duration, treatment intensity, and brain tissue loss in schizophrenia: a prospective longitudinal MRI study*. Am. J. Psychiatry 2013; 170: 609–615.
32. Rybakowski J, Skibinska M, Kapelski P, Kaczmarek L, Hauser J. *Functional polymorphism of the matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene in schizophrenia*. Schizophr. Res. 2009; 109(1–3): 90–93.
33. Han H, He X, Tang J, Liu W, Liu K, Zhang J i wsp. *The C(-1562)T polymorphism of matrix metalloproteinase-9 gene is associated with schizophrenia in China*. Psychiatry Res. 2011; 190(1): 163–164.
34. Kucukali C, Aydin M, Ozkok E, Bilge E, Orhan N, Zengin A i wsp. *Do schizophrenia and bipolar disorders share a common disease susceptibility variant at the MMP3 gene?* Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 2009; 33(3): 557–561.
35. Lepeta K, Purzycka K, Pachulska-Wieczorek K, Mitjans M, Begemann M, Vafadari B. i wsp. *A normal genetic variation modulates synaptic MMP-9 protein levels and the severity of schizophrenia symptoms*. EMBO Mol. Med. 2017; 9(8): 1100–1116.
36. Domenici E, Wille D, Tozzi F, Prokopenko I, Miller S, McKeown A i wsp. *Plasma protein biomarkers for depression and schizophrenia by multi analyte profiling of case-control collections*. PLoS One 2010; 5(2): 9166.

37. Jeffries C, Perkins D, Fournier M, Do K, Cuenod M, Khadimallah I i wsp. *Networks of blood proteins in the neuroimmunology of schizophrenia*. Transl. Psychiatry 2018; 8(1): 112.
38. Sharma N, Wang X, Majerciak V, Ajiro M, Kruhlak M, Meyers C i wsp. *Cell type – and tissue context-dependent nuclear distribution of human Ago2*. J. Biol. Chem. 2016; 291(5): 2302–2309.
39. Ierusalimsky V, Balaban P. *Type 1 metalloproteinase is selectively expressed in adult rat brain and can be rapidly upregulated by kainate*. Acta Histochem. 2013; 115(8): 816–826.
40. Leake A, Morris C, Whateley J. *Brain matrix metalloproteinase 1 levels are elevated in Alzheimer's disease*. Neurosci. Lett. 2000; 291(3): 201–203.
41. Vos C, Sjulson L, Nath A, McArthur J, Pardo C, Rothstein J i wsp. *Cytotoxicity by matrix metalloprotease-1 in organotypic spinal cord and dissociated neuronal cultures*. Exp. Neurol. 2000; 163(2): 324–330.
42. Valente M, Allen M, Bortolotto V, Lim S, Conant K, Grilli M. *The MMP-1/PAR-1 axis enhances proliferation and neuronal differentiation of adult hippocampal neural progenitor cells*. Neural. Plast. 2015; 64: 65–95.
43. Allen M, Ghosh S, Ahern G, Villapol S, Maguire-Zeiss K, Conant K. *Protease induced plasticity: matrix metalloproteinase-1 promotes neurostructural changes through activation of protease activated receptor 1*. Sci. Rep. 2016; 6: 354–397.
44. Szklarczyk A, Oyler G, McKay R, Gerfen C, Conant K. *Cleavage of neuronal synaptosomal-associated protein of 25 kDa by exogenous matrix metalloproteinase – 7*. J. Neurochem. 2007; 102(4): 1256–1263.
45. Lee Y, Hsiao C, Lin F, Jan J, Chou Y, Lin Y i wsp. *Haloperidol Abrogates Matrix Metalloproteinase-9 Expression by Inhibition of NF-κB Activation in Stimulated Human Monocytic Cells*. Mediators Inflamm. 2018; 2018: 9541459.
46. McGregor N, Thompson N, Sean O'Connell K, Emsley R, van der Merwe L, Warnich L. *Modification of the association between antipsychotic treatment response and childhood adversity by MMP9 gene variants in a first-episode schizophrenia cohort*. Psychiatry Research 2018; 262: 141–148.
47. Liu Y, Huang Y, Xu Y, Qu P, Wang M. *Memantine protects against ischemia/reperfusion-induced brain endothelial permeability*. IUBMB Life 2018; 70(4): 336–343.
48. Tayebjee M, Lip G, Blann A, Macfadyen R. *Effects of age, gender, ethnicity, diurnal variation and exercise on circulating levels of matrix metalloproteinases (MMP)-2 and – 9, and their inhibitors, tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP)-1 and – 2*. Thromb. Res. 2005; 115(3): 205–210.
49. Weber K, Alipui D, Sison C, Bloom O, Quraishi S, Overby M i wsp. *Serum levels of the proinflammatory cytokine interleukin-6 vary based on diagnoses in individuals with lumbar intervertebral disc diseases*. Arthritis Res. Ther. 2016; 18: 3.

Adres: Aneta Tylec  
II Klinika Psychiatrii i Rehabilitacji Psychiatrycznej  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
20-439 Lublin, ul. Głuska 1  
e-mail: anetatylec@wp.pl

Otrzymano: 23.05.2020  
Zrecenzowano: 19.06.2020  
Otrzymano po poprawie: 10.07.2020  
Przyjęto do druku: 23.08.2020