

The effect of age and hypertension on activity of circulating matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in rats

Vplyv veku a hypertenzie na aktivitu cirkulujúcich matrixových metaloproteináz (MMP-2 a MMP-9) u potkanov

Kollárová M¹, Púzszerová A², Bališ P², Radošinská D³, Tóthová L⁴, Barteková M^{1,5}, Barančík M⁵, Radošinská J^{1,5}

¹Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, Slovenská republika

Kollarova M, Puzserova A, Balis P, Radosinska D, Tothova L, Bartekova M, Barancik M, Radosinska J. **The effect of age and hypertension on activity of circulating matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in rats.** Cardiology Lett. 2021;30(2):111–118

Abstract. *Aims:* Matrix metalloproteinases (MMPs) are important in the pathogenesis of many diseases, including cardiovascular. The aim of the proposed study was to monitor the activities of MMP-2 and MMP-9 in spontaneously hypertensive rats (SHR) and their normotensive controls - Wistar-Kyoto rats (WKY) of different age categories.

Methods: Animals were divided into 6 groups, based on age (7, 20, and 52 weeks) and normo/hypertension: WKY-7, WKY-20, WKY-52, SHR-7, SHR-20, and SHR-52. Plasma activities of MMPs were determined by gelatin zymography. In addition, parameters of oxidative stress and antioxidant status, as well as NT-proBNP, as a marker of cardiac function and neurohumoral activation, were monitored.

Results: In young 7-week-old hypertensive animals (SHR-7) the activity of MMP-2 was higher compared with normotensive (WKY-7), whereas in older 52-week-old hypertensive animals (SHR-52) the activity of MMP-2 and MMP-9 was lower compared with normotensive controls (WKY-52). Regarding age-related changes, MMP-2 activities decreased with age and MMP-9 activities increased with age in both normotensive and hypertensive rats. The parameters of oxidative stress, antioxidant status, and NT-proBNP levels did not worsen with age. *Conclusion:* Our results point to differences in the activation of different MMPs during aging. In addition, inhibition of MMP-2 could be therapeutically useful in developing hypertension. However, inhibition of MMP-2 and MMP-9 may not be desirable in fully developed and stabilized hypertension. Fig. 3, Ref. 37, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Key words: gelatinases – hypertension – oxidative stress – spontaneously hypertensive rats

Kollárová M, Púzszerová A, Bališ P, Radošinská D, Tóthová L, Barteková M, Barančík M, Radošinská J. **Vplyv veku a hypertenzie na aktivitu cirkulujúcich matrixových metaloproteináz (MMP-2 a MMP-9) u potkanov.** Cardiology Lett. 2021;30(2):111–118

Primárna práca bola v plnom rozsahu publikovaná v: Kollarova M, Puzserova A, Balis P, Radosinska D, Tothova L, Bartekova M, Barancik M, Radosinska J. Age- and Phenotype-Dependent Changes in Circulating MMP-2 and MMP-9 Activities in Normotensive and Hypertensive Rats. Int J Mol Sci. 2020 Oct 2;21(19):7286. doi: 10.3390/ijms21197286.

Z ¹Fyziologického ústavu Lekárskej fakulty, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, ²Centra experimentálnej medicíny, Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava, ³Prirodovedeckej fakulty, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava, ⁴Ústavu molekulárnej biomedicíny Lekárskej fakulty, Univerzita Komenského v Bratislave, Bratislava a ⁵Centra experimentálnej medicíny, Ústav pre výskum srdca, Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

Do redakcie došlo dňa 8. februára 2021; prijaté dňa 31. mája 2021

Adresa pre korešpondenciu: doc. MUDr. Jana Radošinská, PhD., Fyziologický ústav, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Sackova 2, 813 72 Bratislava, Slovenská republika, e-mail: jana.radosinska@fmed.uniba.sk

Abstrakt. *Ciele:* Matrixové metaloproteinázy (MMP) sú dôležité v patogenéze mnohých ochorení vrátane kardiovaskulárnych. Cieľom tejto štúdie bolo zmonitorovať aktivity cirkulujúcich MMP-2 a MMP-9 u spontánne hypertenzných potkanov (SHR) a ich normotenzných kontrol – Wistar-Kyoto potkanov (WKY) rôznych vekových kategórií.

Metódy: Zvieratá boli rozdelené na základe veku (7, 20 a 52 týždňov) a normo/hypertenzie do šiestich skupín: WKY-7, WKY-20, WKY-52, SHR-7, SHR-20 a SHR-52. Plazmatické aktivity MMP boli stanovené metódou želatínovej zymografie. Okrem toho sa sledovali aj vybrané parametre oxidačného stresu a antioxidačného stavu, ako aj NT-proBNP ako marker srdcovej funkcie a neurohumorálnej aktivácie.

Výsledky: U mladých 7-týždňových hypertenzných zvierat (SHR-7) bola aktivita MMP-2 vyššia v porovnaní s normotenznými (WKY-7); u starších 52-týždňových hypertenzných zvierat (SHR-52) bola aktivita MMP-2, ako aj MMP-9 nižšia v porovnaní s normotenznými kontrolami (WKY-52). Čo sa týka vekom podmienených zmien, aktivity MMP-2 vekom klesali a aktivity MMP-9 vekom stúpali u normotenzných aj hypertenzných potkanov. Parametre oxidačného stresu, antioxidačného stavu a hladiny NT-proBNP nevykazovali jednoznačné zhoršenie s vekom.

Záver: Výsledky poukazujú na rozdiely v aktivácii rôznych MMP v procese starnutia. Navyše, inhibícia MMP-2 by sa mohla terapeuticky využiť pri rozvíjajúcej sa hypertenzii, avšak pri úplne rozvinutej a stabilizovanej hypertenzii nemusí systémová inhibícia MMP-2 a MMP-9 vykazovať želaný efekt. Obr. 3, Lit. 37, on-line full text (Free, PDF) www.cardiologyletters.sk

Kľúčové slová: želatínázy – hypertenzia – oxidačný stres – spontánne hypertenzné potkany

Matrixové metaloproteinázy (MMP) sú proteolytické enzýmy dôležité pre degradáciu a remodeláciu extracelulárneho matrixu (ECM) pri fyziologických aj patologických podmienkach. MMP môžu ovplyvňovať vývoj ochorenia prostredníctvom troch rôznych patofyziologických mechanizmov: deštrukcia parenchýmu, fibróza a degradácia ECM. Mnoho štúdií ukázalo, že MMP sú priamo spojené s takmer každým biologickým procesom, ktorý zahŕňa remodeláciu ECM, od embryogenézy až po smrť bunky a tiež by mohli byť regulátormi medzibunkovej signalizácie v rôznych tkanivách (1 – 3). U ľudí je známych viac ako 20 MMP rozdelených do šiestich skupín na základe ich štruktúry a substrátovej špecificity (4, 5). MMP-2 a MMP-9, na ktoré sa v našej štúdii zameriavame, patria do skupiny želatínáz. Zapojené sú do patogenézy širokého spektra ochorení, vrátane kardiovaskulárnych (6 – 9).

Hoci MMP-2 a MMP-9 patria do jednej skupiny, existujú medzi nimi určité rozdiely. MMP-2 je produkovaná fibroblastmi, endotelovými bunkami a osteoblastmi, a je zapojená do fyziologickej remodelácie tkaniva (napríklad počas rastu). MMP-9 sa uvoľňuje z neutrofilov, epitelových buniek a monocytov, respektíve makrofágov, ktoré sú aktivované rôznymi stimulmi (3, 7). MMP-2 aj MMP-9 sú schopné štiepiť kolagén a laminín typu I, V, VII a XI. Vďaka tejto schopnosti sa podieľajú na prestavbe bazálnej membrány a ich aktivita reguluje migráciu a proliferáciu buniek počas hojenia rán a nádorového rastu (10, 11). Kým gén pre MMP-9 má väzbové miesta pre prozápalové transkripčné faktory, tieto väzbové miesta nie sú prítomné v prípade génu pre MMP-2. MMP-2 je konštitutívne exprimovaná celým spektrom buniek bez nevyhnutnej stimulácie. Aj MMP-9 je konštitutívne exprimovaná v eozinofiloch a neutrofiloch, hlavnými producentmi sú ale aktivované makrofágy. MMP-9 teda viac súvisí s imunitným

systémom, pretože väčšina MMP-9 sa uvoľňuje z aktivovaných imunitných buniek (2). Obe želatínázy sa zúčastňujú na proteolytickej aktivácii mnohých cytokínov (11, 12). Úloha MMP-2 a MMP-9 v etiopatogenéze esenciálnej hypertenzie je zdokumentovaná v mnohých štúdiách (13 – 15), žiadna z nich sa však komplexne nezaobrá ich aktiváciou v závislosti od veku, prípadne štádia hypertenzie.

V našej štúdii sme sa preto zamerali na opísanie zmien v plazmatických aktivitách MMP-2 a MMP-9 v najpoužívanejšom experimentálnom modeli esenciálnej hypertenzie – spontánne hypertenzných potkanov (SHR), v závislosti od veku experimentálnych zvierat (7, 20 a 52 týždňov) a ich normotenzných kontrol Wistar-Kyoto potkanov (WKY). Pretože k priamej aktivácii MMP dochádza v podmienkach zvýšeného oxidačného stresu (16), aktivity cirkulujúcich MMP-2 a MMP-9 sme sledovali spolu s parametrami oxidačného stresu a antioxidačnej kapacity. Pre zistenie závažnosti hypertenzie a jej možného prechodu do srdcového zlyhania sme zmonitorovali aj hladiny NT-proBNP.

Materiál a metódy

Animálny model

Použili sme samcov potkanov SHR (SHR/NHsd, HARLAN UK) a WKY (WKY/NHsd, HARLAN UK). Potkanov sme chovali pri konštantnej teplote a vlhkosti s 12-hodinovým cyklom svetlo-tma a krmili štandardnou stravou. Rozdelené boli do šiestich skupín na základe veku (7, 20 a 52 týždňov, čo zodpovedá mladým, dospelým a starším jedincom) a kmeňa do nasledovných skupín: SHR-7 (n = 7), SHR-20 (n = 7), SHR-52 (n = 10), WKY-7 (n = 10), WKY-20 (n = 7) a WKY-52 (n = 8). Počas celého života sa sledovala

hmotnosť potkanov, meral sa ich systolický tlak krvi (sTK) a srdcová frekvencia. Po dosiahnutí stanoveného veku boli zvieratá usmrtené a krv bola odobratá do heparinizovaných skúmaviek a okamžite centrifugovaná. Na ďalšie analýzy sa použila plazma.

Všetky postupy boli vykonané v súlade s inštitucionálnymi a európskymi smernicami o laboratórnej starostlivosti o zvieratá a schválené Etickou komisiou Centra experimentálnej medicíny Slovenskej akadémie vied (EK/1/17 a EK/vekhyp/2014) a odborom veterinárnej starostlivosti, štátnej veterinárnej a potravinovej správy Slovenskej republiky (Ro-1087/17-221 a Ro-3095/14-221).

Biochemická analýza oxidačného stresu a antioxidačného stavu

Vo vzorkách plazmy boli stanovené markery produktov oxidačného poškodenia (produkty pokročilej oxidácie proteínov – AOPP a markery peroxidácie lipidov – TBARS), karbonylového stresu (produkty pokročilej glykácie – AGEs a fruktozamin) a antioxidačnej kapacity (schopnosť plazmy redukovať železité katióny – FRAP, ako aj pomer redukovaného a oxidovaného glutatiónu – GSH/GSSG). Postupovali sme podľa predchádzajúcich štúdií (17, 18).

Analýza NT-proBNP

Hladiny NT-proBNP sa merali pomocou Rat NT-proBNP ELISA Kitu (Elabscience Biotechnology Inc., USA) podľa pokynov výrobcu.

Analýza aktivity MMP

Aktivity cirkulujúcich MMP-2 a MMP-9 sa merali pomocou želatínovej zymografie v 10 % polyakrylamidovom géli, ktorý obsahoval želatínu (2 mg/ml) ako substrát (19). Vzhľadom na použitú metódu sme boli obmedzení v počte vzoriek spracovaných na jednom géli, tzv. zymograme. Z tohto dôvodu sme rozdiely medzi normo- a hypertenznými potkanmi, a rozdiely závislé od veku hodnotili osobitne a nezávisle.

Štatistické analýzy

Výsledky sú prezentované ako priemer $\pm$ štandardná odchýlka (SD). Normalita dát sa analyzovala pomocou D'Agostino-Pearsonovho testu. Odlahlé hodnoty sa identifikovali pomocou Grubbsovho testu a z ďalších analýz boli vylúčené. Štatistická významnosť pre srdcovú frekvenciu, sTK, oxidačný stav a NT-proBNP sa analyzovala dvojcestnou ANOVA s faktormi vek a hypertenzia. Vzhľadom na metodiku stanovenia aktivity MMP, z ktorej sme získali semikvantitatívne údaje, sme osobitne vyhodnotili vplyv hypertenzie (t-test) a osobitne efekt veku (jednocestná ANOVA s Tukey post-hoc testom). Na skúmanie vzťahov medzi premennými sme vypočítali Pearsonove korelačné koeficienty. Hodnoty sa považovali za významne odlišné, keď $p < 0,05$.

Výsledky

Základná charakteristika experimentálnych zvierat

Telesná hmotnosť bola nižšia u SHR-52 v porovnaní s WKY rovnakého veku, kým u 7- a 20-týždňových zvierat sa medzi WKY a SHR neodlišovala. U normotenzných zvierat bol sTK výrazne vyšší u WKY-52 v porovnaní s WKY-7 ako aj WKY-20. U SHR bol sTK nižší u SHR-7 v porovnaní s SHR-20 a SHR-52. Srdcová frekvencia bola vyššia u všetkých SHR v porovnaní s WKY rovnakého veku.

Markery oxidačného stresu

Markery oxidačného poškodenia proteínov a lipidov

Koncentrácie AOPP nepreukázali významné rozdiely medzi skupinami. Oba faktory (vek a hypertenzia) boli štatisticky významné pri TBARS – koncentrácie boli vyššie u WKY v porovnaní s SHR a koncentrácie s vekom u SHR klesali. TBARS boli signifikantne vyššie u WKY-52 v porovnaní s SHR-52. U WKY boli TBARS významne nižšie u WKY-20 ako u WKY-52. U SHR boli TBARS vyššie u SHR-7 ako u SHR-20 a SHR-52.

Karbonylový stres

Koncentrácie AGEs sa spočiatku s vekom znižovali. Hladiny AGEs boli významne vyššie u WKY-7 v porovnaní s WKY-20 a WKY-52, zatiaľ čo medzi WKY-20 a WKY-52 rozdiel nebol. U SHR boli hladiny AGEs významne vyššie u SHR-7 ako u SHR-20, ale významne nižšie u SHR-20 v porovnaní s SHR-52. Koncentrácie fruktozaminu boli bez štatisticky významných rozdielov medzi jednotlivými skupinami.

Antioxidačná kapacita

Pri hodnotení FRAP ako markera antioxidačnej kapacity sme nepozorovali významné rozdiely medzi jednotlivými skupinami. Pomer GSH/GSSG bol nižší u WKY-7 v porovnaní s SHR-7.

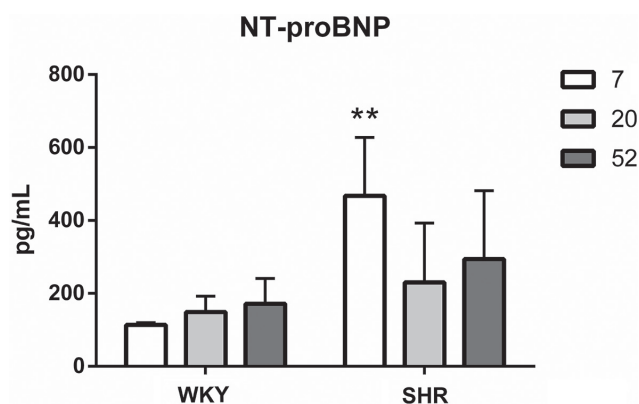
NT-proBNP

Pri analýze hladín NT-proBNP sa faktor hypertenzie javil ako štatisticky významný. Koncentrácie NT-proBNP boli navyše u SHR-7 významne vyššie v porovnaní s WKY-7 (obrázok 1).

Aktivita cirkulujúcich MMP-2 a MMP-9

Analýza závislá od hypertenzie

Aktivita MMP-2 bola medzi normo- a hypertenznými potkanmi odlišná v dvoch vekových kategóriách – bola nižšia u WKY-7 v porovnaní s SHR-7 a vyššia u WKY-52 v porovnaní s SHR-52 (obrázok 2A). U 20-týždňových jedincov sme nepozorovali žiadne rozdiely v plazmatických aktivitách MMP-2 medzi normotenznými a hypertenznými zvieratami.



Obrázok 1 NT-proBNP u WKY a SHR v troch rôznych vekových skupinách – 7-, 20- a 52-týždňových potkanov

Figure 1 NT-proBNP in WKY and SHR in three different age categories – 7-, 20- and 52-week-old rats

Dáta sú prezentované ako priemer $\pm$ SD. ** $p < 0,01$ v porovnaní s vekovo zhodnou skupinou WKY. WKY – Wistar-Kyoto potkany, SHR – spontánne hypertenzné potkany

(Data are presented as mean $\pm$ SD. ** $p < 0,01$ compared with the age-matched WKY group. WKY – Wistar-Kyoto rats, SHR – spontaneously hypertensive rats)

Aktivita MMP-9 bola vyššia u WKY-52 v porovnaní s SHR-52 (**obrázok 2B**). U 7-týždňových, ako aj u 20-týždňových potkanov neboli pozorované významné rozdiely v plazmatických aktivitách MMP-9 medzi normotenznými a hypertenznými zvieratami.

Analýza závislá od veku

Aktivita MMP-2 bola významne vyššia u WKY-7 v porovnaní s WKY-20 a u WKY-7 v porovnaní s WKY-52 ($r =$

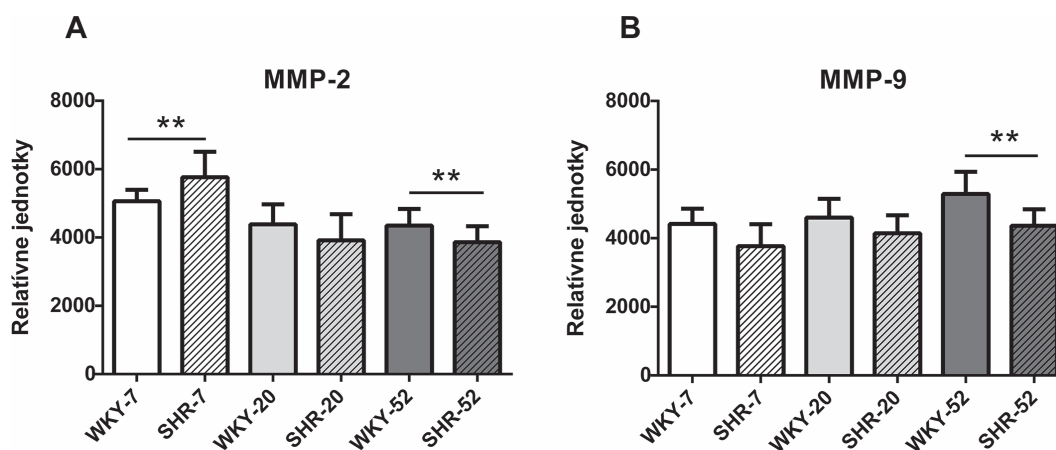
$-0,73$, $p < 0,0001$, $n = 43$) (**obrázok 3A**). Analogické rozdiely sa pozorovali u SHR – aktivita MMP-2 bola významne vyššia u SHR-7 v porovnaní s SHR-20 a u SHR-7 v porovnaní s SHR-52 ($r = -0,66$, $p < 0,0001$, $n = 42$) (**obrázok 3B**).

Aktivita MMP-9 bola významne nižšia u WKY-7 v porovnaní s WKY-20 a u WKY-7 v porovnaní s WKY-52 ($r = 0,75$, $p < 0,0001$, $n = 43$) (**obrázok 3C**). U SHR bola aktivita MMP-9 významne nižšia u SHR-7 v porovnaní s SHR-52 a u SHR-20 v porovnaní s SHR-52 ($r = 0,64$, $p < 0,001$, $n = 42$) (**obrázok 3D**).

Diskusia

V predloženej štúdii boli monitorované aktivity MMP-2 a MMP-9 spolu s parametrami oxidačného stresu a antioxidačnej kapacity v dôsledku možnej priamej aktivácie MMP pri podmienkach zvýšeného oxidačného stresu. Podľa dostupných informácií, štúdie skúmajúce referenčné hodnoty markerov oxidačného stresu v plazme a aktivity MMP-2 a MMP-9 v plazme potkanov v troch vekových kategóriách ešte neboli publikované.

Medzi potenciálnymi faktormi podieľajúcimi sa na patogenéze hypertenzie zohrávajú srdcové natriuretické peptidy (NP) kľúčovú úlohu. Predchádzajúca genomická štúdia preukázala, že gény pre BNP a natriuretický peptidový receptor C patria medzi najdôležitejšie gény zapojené do patogenézy esenciálnej hypertenzie, a súčasne neidentifikovali žiadny z génov systému renín-angiotenzín-aldosterón, ktorý by prispieval k rozvoju tohto polygénneho ochorenia (20). Vyšetrovanie MMP na experimentálnych modeloch a tiež u pacientov s hypertenziou je klinicky zaujímavé aj

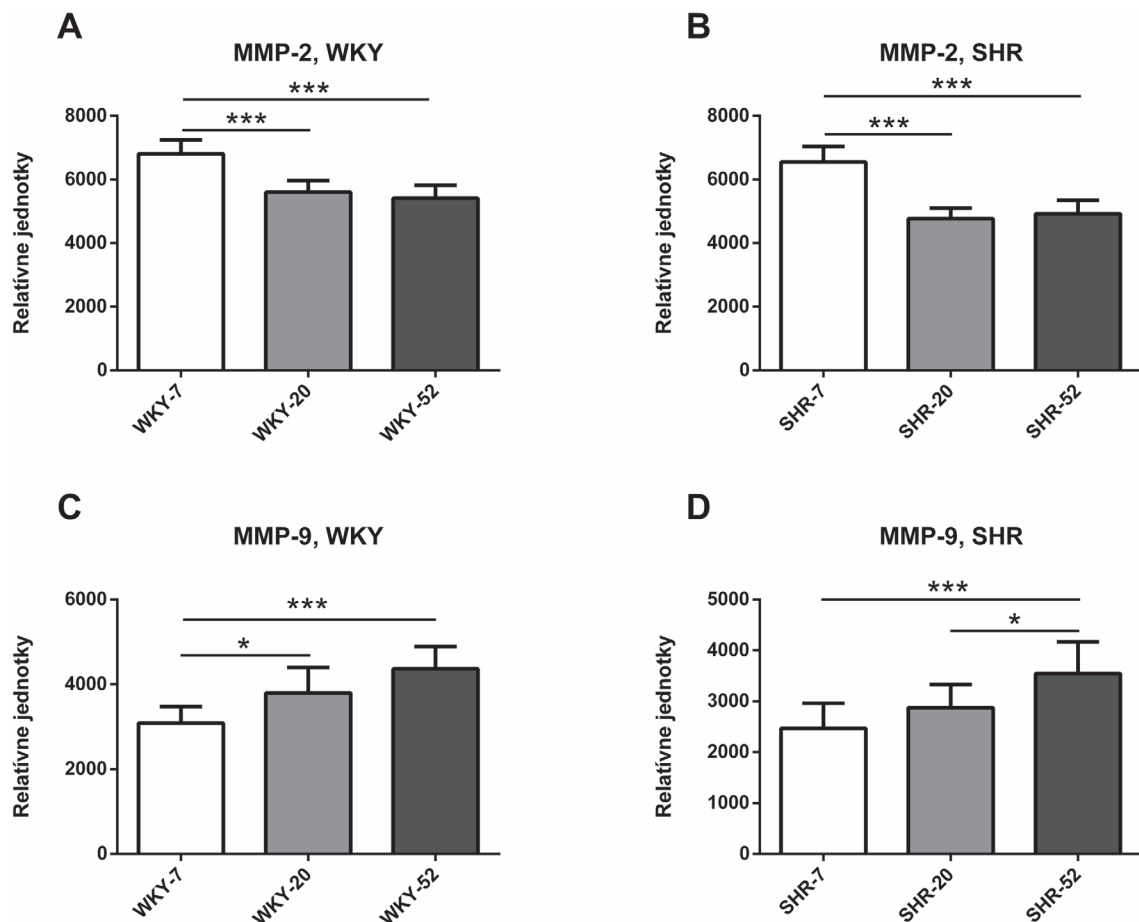


Obrázok 2 Rozdiely v aktivitách MMP-2 (A) a MMP-9 (B) závislé od normo/hypertenzie

Figure 2 Normo/hypertension differences in MMP-2 (A) and MMP-9 (B) activities

Dáta sú prezentované ako priemer $\pm$ SD. ** $p < 0,01$. MMP – matrixová metaloproteináza, WKY – Wistar-Kyoto potkany, SHR – spontánne hypertenzné potkany

(Data are presented as mean $\pm$ SD. ** $p < 0,01$. MMP – matrix metalloproteinase, WKY – Wistar-Kyoto rats, SHR – spontaneously hypertensive rats)



Obrázok 3 Vekové rozdiely v aktivitách MMP-2 u WKY (A), SHR (B) a vekové rozdiely v aktivitách MMP-9 u WKY (C) a SHR (D)

Figure 3 Age differences in MMP-2 activities in WKY (A), SHR (B) and age differences in MMP-9 activities in WKY (C) and SHR (D)

Dáta sú prezentované ako priemer $\pm$ SD. * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$. MMP – matrixová metaloproteináza, WKY – Wistar-Kyoto potkany, SHR – spontánne hypertenzné potkany

(Data are presented as mean $\pm$ SD. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$. MMP – matrix metalloproteinase, WKY – Wistar-Kyoto rats, SHR – spontaneously hypertensive rats)

vzhľadom na ich použitie ako potenciálnych biomarkerov progresie ochorenia a potenciálnych prediktorov účinnosti liečby. Výskum patofyziológie závislej od ECM môže viesť k pokroku v diagnostike a liečbe kardiovaskulárnych ochorení (14, 21 – 23).

Biometrické a kardiovaskulárne parametre

Použitý animálny model esenciálnej hypertenzie vykazoval typické vlastnosti pre sTK, srdcovú frekvenciu a hmotnosť SHR v porovnaní s WKY. Hoci sa hmotnosť tela a sTK s vekom v oboch skupinách zvyšovali, srdcová frekvencia zostala stabilná. Zaujímavé je, že u 52-týždňových WKY sa pozorovalo zvýšenie sTK v porovnaní so 7- a 20-týždňovými jedincami WKY. Aj u normotenzných zvierat sTK vekom stúpala, nie však až na hodnotu, ktorá by zodpovedala hypertenzii. U 7-týždňových SHR ešte nebola hypertenzia úplne vyvinutá. Je známe, že sTK sa u kmeňa SHR začína spontánne

zvyšovať okolo 5. až 6. týždňa života potkanov až do veku 12 týždňov, a potom sa stabilizuje (24).

Parametre oxidačného stresu

Zistilo sa, že zvýšený oxidačný stres súvisí s hypertenziou aj so starnutím (25 – 27). V predkladanom experimente sa sledovali vybrané parametre oxidačného stresu a antioxidačného stavu, čo je dôležité pre komplexné pochopenie zmien závislých od veku a hypertenzie u použitých experimentálnych zvierat. TBARS ako markery lipidovej peroxidácie boli ovplyvnené tak vekom (pokles), ako aj hypertenziou (nižšie hodnoty u SHR v porovnaní s WKY). Produkty karbonylového stresu – AGEs boli nižšie u 20-týždňových a 52-týždňových zvierat WKY aj SHR v porovnaní so zodpovedajúcimi mladými zvieratami. Nie je jasné prečo tieto dva markery, o ktorých sa všeobecne predpokladá, že starnutím dochádza k ich zvýšeniu (28, 29), vekom poklesli. Je však pozoruhodné, že pomer

GSH/GSSG bol vyšší u SHR-7 v porovnaní s WKY-7 a toto zvýšenie pretrvávalo aj u 20- a 52-týždňových zvierat. Možno predpokladať, že mladé SHR majú kompenzačné mechanizmy, ktoré majú za následok zvýšenie antioxidačnej kapacity, čo vedie aspoň na určité obdobie k zníženiu oxidačného stresu. Hoci 52-týždňové potkany možno považovať za staršie, stále to predstavuje polčas života tohto zvierata a antioxidačné rezervy ešte nemusia byť úplne vyčerpané. Okrem toho, AOPP, fruktozamin a FRAP nepreukázali žiadnu dynamiku a rozdiely v skupinách ani medzi nimi. Taktiež je možné, že kým výsledky tejto štúdie naznačujú znížený oxidačný stres u starších SHR, iné parametre, ktoré v tejto práci monitorované neboli, by poukázali na jeho zvýšenie. Neexistujú však žiadne ďalšie dostupné relevantné štúdie, s ktorými by v tejto práci dosiahnuté výsledky bolo možné porovnať, a to buď z dôvodu iného veku experimentálnych zvierat (30, 31), alebo použitého animálneho modelu (32).

NT-proBNP

NT-proBNP môže informovať o neurohumorálnej aktivácii u experimentálnych zvierat (33). Hlavným stimulom pre produkciu srdcového BNP je natiiahnutie kardiomyocytov. V predloženej experimente sa očakávalo a potvrdilo, že hladiny NT-proBNP sú vyššie u SHR v porovnaní s WKY. Prekvapivo sa zdá, že koncentrácia NT-proBNP sa u hypertenzných zvierat v dôsledku starnutia nemení. Môže to byť následok neurohumorálnej adaptácie na vysoký sTK po stabilizácii jeho zvýšenia v tomto modeli esenciálnej hypertenzie. Je potrebné dodať, že 52-týždňové experimentálne zvieratá, ktoré boli zaradené do tohto experimentu, nevykazovali žiadne príznaky srdcového zlyhania. S ďalším starnutím a zhoršením srdcových funkcií bude pravdepodobne hladina NT-proBNP u SHR následne stúpať, ako to aj bolo pozorované v predchádzajúcej štúdii (34).

MMP

Štúdie *in vitro* podmienkach ukázali, že MMP-2 môže mať dôležitú úlohu v regulácii TK štiepením väčšej molekuly prekursoru endotelínu-1 na silný vazokonstričný endotelín-1. MMP-2 môže byť okrem toho zodpovedná za štiepenie vazodilatačného peptidu súvisiaceho s génom kalcitonínu za vzniku degradačných produktov s nižšou vazodilatačnou aktivitou a môže tiež pôsobiť na adrenomedulín, ktorý pôsobí ako vazodilatátor (9). Pri vaskulárnej remodelácii v dôsledku hypertenzie sa pozorovali zvýšené hladiny a aktivity MMP-2. Fenotypové zmeny v bunkách vaskulárneho hladkého svalstva (VSMC) zahŕňajú ich proliferáciu, migráciu a následnú remodeláciu cievnej steny. V animálnej štúdii Belo et al. (35) ukazujú, že zvýšená artériová aktivita MMP-2 priamo prispieva k zníženiu hladín kalponínu-1 a indukuje proliferáciu VSMC pred začiatkom chronickej remodelácie artérií vyvolanej hypertenziou. Detekcia zvýšených hladín MMP-2 u pacientov s hypertenziou by mohla potenciálne slúžiť ako skorý marker

vaskulárnej remodelácie. Vysoké hladiny MMP-9 v sére sú pravdepodobne zodpovedné za štiepenie β 2-adrenergických receptorov na endotelových bunkách a naznačujú rýchlejšiu progresiu hypertenzie u ľudí (21). Možno predpokladať, keďže sa MMP-2 viac podieľa na fyziologickej remodelácii, napríklad počas rastu tkaniva, že jej aktivita je vekom menej potrebná. Naopak, pri starnutí je MMP-9 viac aktivovaná z dôvodu patologickej prestavby tkanív.

Experimentálny model použitý v predkladanej štúdii preukázal rozdiely v aktivitách MMP-2 medzi SHR a WKY u 7- a 52-týždňových potkanov. U 7-týždňových, t. j. počas vývoja hypertenzie, je pozorovateľná vyššia aktivácia MMP-2 u SHR v porovnaní s WKY. Žiaden rozdiel však nebol pozorovaný pri sledovaní plazmatickej aktivity MMP-9. To môže poukazovať na dôležitejšiu úlohu MMP-2, ako aj jej sledovania, pri vzniku hypertenzie v porovnaní s MMP-9 v tomto konkrétnom modeli. Po stabilizácii hypertenzie, t. j. u 20-týždňových zvierat, bola plazmatická aktivita MMP-2 rovnaká u WKY aj SHR. S ďalším starnutím sa aktivita MMP-2 znižovala – u SHR-52, ako aj u WKY-52 bola nižšia v porovnaní s 20-týždňovými zvieratami. Existuje paralela s humánnou štúdiou, v ktorej bola stabilizovaná artériová hypertenzia sprevádzaná poklesom plazmatickej aktivity MMP-2 v porovnaní s normotenznými kontrolami (36). Podobne bola aj plazmatická aktivita MMP-9 u SHR-52 nižšia v porovnaní s WKY-52. Mnoho liekov, ktoré sa podávajú hypertenzným pacientom, ovplyvňuje aj MMP-2 a MMP-9 (37). Z toho vyplýva, že aktivity MMP závisia od veku a mohli by interferovať s liečbou.

V podmienkach normo- aj hypertenzie plazmatické aktivity MMP-2 klesali s vekom, na druhej strane, plazmatické aktivity MMP-9 s vekom stúpali. Výsledky predloženej štúdie naznačujú, že inhibícia MMP-2 by mohla byť terapeuticky využiteľná počas vývoja hypertenzie, kým pri rozvinutej, stabilizovanej a nekomplikovanej hypertenzii by systémová inhibícia MMP-2 a MMP-9 mohla vykazovať skôr neželaný efekt.

Záver

Hypertenziu sprevádza rôzna aktivácia želatináz v mladom a vyššom veku, respektíve aktivita MMP-2 a MMP-9 v plazme je rozdielna v rozvíjajúcej sa hypertenzii a pri úplne rozvinutej hypertenzii. Ak sa potvrdia rovnaké rozdiely u ľudí, mohlo by sa to aplikovať v rozdielnom terapeutickom prístupe k pacientom rôzneho veku s geneticky podmienenou hypertenziou, prípadne k pacientom v rôznom štádiu rozvoja hypertenzie.

Ďakovanie

Tento výskum bol podporený z grantov: UK/84/2020, APVV-18-0287, APVV-18-0548, VEGA 2/0104/20 a grantom Slovenskej kardiologickej spoločnosti.

Konflikt záujmov

Autori deklarujú, že neexistuje žiadny konflikt záujmov vo vzťahu k tejto práci.

Literatúra

- Rodríguez D, Morrison CJ, Overall CM. Matrix metalloproteinases: What do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*. 2010;1803:39–54. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2009.09.015.
- Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M, Rosochacki S. Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2016; 31(sup1): 77–183. DOI: 10.3109/14756366.2016.1161620.
- Loffek S, Schilling O, Franzke CW. Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance. *European Respiratory Journal*. 2011;38:191–208. DOI: 10.1183/09031936.00146510.
- Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Research*. 2006;69:562–573. DOI: 10.1016/j.cardiores.2005.12.002.
- Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, et al. Extracellular matrix structure. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016;97:4–27. DOI: 10.1016/j.addr.2015.11.001.
- Radosinska J, Barancik M, Vrbjar N. Heart failure and role of circulating MMP-2 and MMP-9. *Panminerva Medica*. 2017;59:241–253. DOI: 10.23736/S0031-0808.17.03321-3.
- Yabluchanskiy A, Ma Y, Iyer RP, et al. Matrix metalloproteinase-9: many shades of function in cardiovascular Disease. *Physiology*. 2013;28:391–403. DOI: 10.1152/physiol.00029.2013.
- Liu P, Sun M, Sader S. Matrix metalloproteinases in cardiovascular disease. *Canadian Journal of Cardiology*. 2006;22(Suppl B):25B–30B. DOI: 10.1016/S0828-282X(06)70983-7.
- Azevedo A, Prado AF, Antonio RC, et al. Matrix metalloproteinases are involved in cardiovascular diseases. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2014;115: 301–314. DOI: 10.1111/bcpt.12282.
- Ahmed SH, Clamk LL, Pennington WR, et al. Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of Metalloproteinases. *Circulation*. 2006;113:2089–2096. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.573865.
- DeLeon-Pennell KY, Meschiari CA, Jung M, et al. Matrix metalloproteinases in myocardial infarction and heart failure. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2017;147:75–100. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2017.02.001.
- Qorri B, Kalaydina RV, Velickovic A, et al. Agonist-biased signaling via matrix metalloproteinase-9 promotes extracellular matrix remodeling. *Cells*. 2018;7:117. DOI: 10.3390/cells7090117.
- Nascimento RA, Possomato-vieira JS, Bonacio GF, et al. Reductions of Circulating Nitric Oxide are Followed by Hypertension during Pregnancy and Increased Activity of Matrix Metalloproteinases-2 and -9 in Rats. *Cells* 2019;8
- Kuliczowski W, Banaszkiewicz M, Mysiak A. Does arterial hypertension affect plasma levels of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in patients with stable coronary artery disease? A Preliminary Study. *Cardiology Research and Practice* 2019;2019.
- Ritter AMV, de Faria AP, Barbaro N, et al. Crosstalk between obesity and MMP-9 in cardiac remodelling –a cross-sectional study in apparent treatment-resistant hypertension. *Blood Pressure*. 2017;26:122–129. DOI: 10.1080/08037051.2016.1249336.
- Okamoto T, Akaike T, Sawa T, et al. Activation of matrix metalloproteinases by Peroxynitrite-induced Protein S - Glutathiolation via Disulfide S -Oxide Formation * 2001;276:29596–29602. DOI: 10.1074/jbc.M102417200.
- Tothova L, Hodosy J, Mettenburg K, et al. No harmful effect of different Coca-cola beverages after 6 months of intake on rat testes. *Food Chem Toxicol*. 2013;Dec(62): 343–348. DOI: 10.1016/j.fct.2013.08.073.
- Gyurászová M, Kovalčíková A, Janšáková K, et al. Markers of oxidative stress and antioxidant status in the plasma, urine and saliva of healthy mice. *Physiol Res*. 2018;67:921–934.
- Bencsik P, Bartekova M, Görbe A, et al. MMP Activity detection in zymograms. methods in molecular biology (Clifton, NJ). 2017;1626:53–70. DOI: 10.1007/978-1-4939-7111-4_6.
- International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association Studies, Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, Bochud M, Johnson AD, et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature*. 2011; 478: 103–109. DOI: 10.1038/nature10405.
- Wang S, Li S, Wang B, et al. Matrix metalloproteinase-9 is a predictive factor for systematic hypertension and heart dysfunction in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *BioMed Research International*. 2018;2018. DOI: 10.1155/2018/1569701.
- Yang W, Lu J, Yang L, et al. Association of matrix metalloproteinase-9 gene -1562C/T polymorphism with essential hypertension: A systematic review and meta-analysis article. *Iranian Journal of Public Health*. 2015;44:1445–1452.
- Tayebjee M, Nadar S, MacFadyen R, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-9 levels in patients with hypertension. *American Journal of Hypertension*. 2004;17: 770–774. DOI: 10.1016/j.amjhyper.2004.06.023.
- Puzserova A, Kopincova J, Bernathova I. Endothelial (dys) function in the experimental model of primary hypertension. *Československá Fyziologie*. 2010;59.
- Mecocci P, Boccardi V, Cecchetti R, et al. A long journey into aging, brain aging, and Alzheimer's disease following the oxidative stress tracks. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*. 2018;62:1319–1335. DOI: 10.3233/JAD-170732.
- Nabha L, Garbern JC, Buller CL, et al. Vascular oxidative stress precedes high blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Clinical and Experimental Hypertension (New York, NY: 1993)*. 2005;27:71–82. DOI: 10.1081/ceh-200044267.
- Nakshi S, Kumar DP. Oxidative stress and antioxidants in hypertension—a current review. *Current Hypertension Reviews*. 2015;11:132–142. DOI: 10.2174/1573402111666150529130922.
- Moldogazieva NT, Mokhosoev IM, Mel'nikova TI et al. Oxidative stress and advanced lipoxidation and glycation end products (ales and ages) in aging and age-related diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2019;2019: 3085756. DOI: 10.1155/2019/3085756.

29. Yavuzer H, Yavuzer S, Cengiz M, et al. Biomarkers of lipid peroxidation related to hypertension in aging. *Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension*. 2016;39:342–348. DOI: 10.1038/hr.2015.156.
30. Cantini C, Kieffer P, Corman B, et al. Aminoguanidine and aortic wall mechanics, structure, and composition in aged rats. *Hypertension (Dallas, Tex: 1979)*. 2001;38: 943–948. DOI: 10.1161/hy1001.096211.
31. De Angelis KL, Oliveira AR, Werner A, et al. Exercise training in aging: hemodynamic, metabolic, and oxidative stress evaluations. *Hypertension (Dallas, Tex: 1979)*. 1997;30(3 Pt 2):767–771. DOI: 10.1161/01.hyp.30.3.767.
32. Ahmadiasl N, Soufi FG, Alipour M, et al. Effects of age increment and 36-week exercise training on antioxidant enzymes and apoptosis in rat heart tissue. *Journal of Sports Science & Medicine*. 2007;6:243–249.
33. Hall C. NT-ProBNP: the mechanism behind the marker. *Journal of Cardiac Failure*. 2005;11(5 Suppl):S81–3. DOI: 10.1016/j.cardfail.2005.04.019.
34. Fu M, Zhou J, Qian J, et al. Adiponectin through its biphasic serum level is a useful biomarker during transition from diastolic dysfunction to systolic dysfunction - an experimental study. *Lipids Health Dis*. 2012;11(106).
35. Belo V de A, Parente JM, Tanus-Santos JE, et al. Matrix metalloproteinase (MMP)-2 decreases calponin-1 levels and contributes to arterial remodeling in early hypertension. *Biochemical Pharmacology*. 2016;118:50–58. DOI: 10.1016/j.bcp.2016.08.012.
36. Giannakos E, Vardali E, Bartekova M, et al. Changes in activities of circulating MMP-2 and MMP-9 in patients suffering from heart failure in relation to gender, hypertension and treatment: a cross-sectional study. *Physiological Research*. 2016;65 Suppl 1:149–152.
37. Hopps E, Caimi G. Matrix metalloproteinases as a pharmacological target in cardiovascular diseases. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2015;19(14):2583–2589. DOI: 9227.