

Aleksandra Baszczuk¹,
Zygmunt Kopczyński¹,
Anna Thielemann¹,
Katarzyna Musialik²,
Jarosław Kopczyński²,
Lena Bielawska¹,
Anna Banaszewska¹,
Damian Skrypnik²

¹Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

²Katedra Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń
Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego
Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu

Ocena stężenia metaloproteiny 2 (MMP-2) i metaloproteiny 9 (MMP-9) w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

Evaluation of concentrations of metalloproteinase 2 (MMP-2) and metalloproteinase 9 (MMP-9) in serum of patients with primary hypertension

STRESZCZENIE

Wstęp: Metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) odgrywają istotną rolę w procesie patologicznej przebudowy ściany naczyń krwionośnych w przebiegu nadciśnienia tętniczego. Głównym celem pracy była ocena stężenia metaloproteiny 2 i metaloproteiny 9 w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

Materiał i metody: Badanie wykonano u 38 chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, w wieku od 21 do 69 lat (21 mężczyzn i 17 kobiet). Grupę kontrolną stanowiło 11 zdrowych ochotników. Oznaczenia stężenia metaloprotein MMP-2 i MMP-9 wykonano techniką ELISA, przy zastosowaniu testów firmy R&D. Pozostałe badania biochemiczne wykonano korzystając z testów i analizatorów firmy Siemens. Uzyskane wyniki parametrów klinicznych i badań laboratoryjnych poddano analizie statystycznej, za pomocą programu komputerowego STATISTICA v.10.

Wyniki: Stężenia MMP-2 w surowicy chorych na nadciśnienie tętnicze nie różniły istotnie statystycznie w porównaniu z wielkością tych parametrów u osób zdrowych. Stężenia MMP-9 były wyższe u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, jednak różnica ta nie była statystycznie znamienna. Uzyskano istotną korelację pomiędzy stężeniem MMP-9 a stężeniem homocysteiny.

Wnioski: Ocena stężenia MMP-2 i MMP-9 w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z zaburzeniami metabolicznymi wymaga dalszych badań z udziałem większej liczby pacjentów.

Słowa kluczowe: metaloproteiny, nadciśnienie tętnicze

(*Forum Zaburzeń Metabolicznych* 2015, tom 6, nr 2, 74–84)

ABSTRACT

Introduction: Matrix metalloproteinases play important role in cardiovascular remodeling process in patients with arterial hypertension. The main purpose of this work was the assessment

Adres do korespondencji:

dr Aleksandra Baszczuk
Katedra i Zakład Diagnostyki
Laboratoryjnej UM

ul. Szamarzewskiego 82/84, 60–569 Poznań
tel.: 61 854 90 34 faks: 61 855 34 96
e-mail: aleksandra.baszczuk@skpp.edu.pl

Copyright © 2015 Via Medica
ISSN 2081–2450

of concentrations of metalloproteinase 2 and metalloproteinase 9 in serum of patients with primary hypertension.

Material and methods: The concentrations of homocysteine, MMP-2 and MMP-9 were measured in 38 patients with primary hypertension at the age of 21–69 (21 male and 17 female). The control group consisted of 11 healthy persons. The concentrations of MMP-2 and MMP-9 were assessed in serum by Elisa method (of sandwich type) using R&D Systems. Other laboratory parameters were determined with use of Siemens method and analyzers. Statistical analysis of results was made with use of STATISTICA v. 10 software.

Results: The concentration of MMP-2 in serum of patients with primary hypertension was comparable to concentrations of MMP-2 in persons from control group. MMP-9 concentration was insignificantly higher in serum of patients with primary hypertension compared with patients from control group. Significant correlations were observed between the MMP-9 concentration in serum of patients with primary hypertension and homocysteine concentration.

Conclusions: Determination of the role of metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 in the development of the arterial hypertension requires further research in larger number of patients.

Key words: metalloproteinases, arterial hypertension

(Forum Zaburzeń Metabolicznych 2015, tom 6, nr 2, 74–84)

WSTĘP

Dane epidemiologiczne wskazują, że nadciśnienie tętnicze dotyczy około 32% dorosłej populacji Polski. Nadciśnienie stanowi poważny problem kliniczny i społeczny ze względu na rozwijające się powikłania w postaci choroby niedokrwiennej serca i udaru mózgu. Dominującą postacią tego schorzenia jest nadciśnienie tętnicze pierwotne, któremu często towarzyszą zaburzenia gospodarki lipidowej i lipoproteinowej, węglowodanowej, przemian niektórych aminokwasów oraz stan zapalny [1].

Patogeneza pierwotnego nadciśnienia tętniczego i rozwój jego powikłań wiąże się z patologiczną przebudową ściany naczyń krwionośnych obejmującą dysfunkcję śródbłonna naczyniowego, przerost mięśniówki gładkiej i powstawanie niestabilnych blaszek miażdżycowych. Istotną rolę w tych procesach odgrywają metaloproteinyzacy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMPs, *matrix metalloproteinases*). Metaloproteinyzacy należą do grupy endopeptydaz zbudowanych z kilku domen, zawierających

w centrum katalitycznym jony cynku, do których aktywacji niezbędne są jony wapnia. Podstawową funkcją metaloproteinyzacy jest trawienie białkowych składników przestrzeni zewnątrzkomórkowej takich jak: kolagen, elastyna, fibronektyna, laminina, proteoglikany. MMPs hydrolizują także substancje, uwalniane przez błony komórkowe, na przykład czynniki wzrostu, cytokiny i chemokiny oraz degradują receptory na powierzchni komórek i biorą udział w oddziaływaniach międzykomórkowych [2]. Z tych powodów aktywność tych enzymów jest niezbędna w procesach fizjologicznych, takich jak: embriogeneza, angiogeneza, gojenie się ran. Wzrost stężenia i/lub aktywności metaloproteinyzacy obserwuje się także w procesach patologicznych: chorobach nowotworowych, schorzeniach degeneracyjnych tkanki nerwowej, posocznicy oraz w chorobach sercowo-naczyniowych [3, 4]. Spośród zbadanych do tej pory 28 metaloproteinyzacy do najczęściej wiązanych z patologią układu krążenia należą metaloproteinyzacy 2 (MMP-2; EC 3.4.24.24)

►► Patogeneza pierwotnego nadciśnienia tętniczego i rozwój jego powikłań wiąże się z patologiczną przebudową ściany naczyń krwionośnych obejmującą dysfunkcję śródbłonna naczyniowego, przerost mięśniówki gładkiej i powstawanie niestabilnych blaszek miażdżycowych. Istotną rolę w tych procesach odgrywają MMPs ◀◀

i metaloproteinaza 9 (MMP-9, EC 3.24.35). Metaloproteinazy 2 i 9 ze względu na podobieństwo w budowie i zdolność do degradacji żelatyny zostały zaliczone do grupy żelatynaz. MMP-2 (żelatynaza A) oprócz żelatyny wykazuje także powinowactwo substratowe do kolagenu typu I, II, III, IV, V, VII, X, XI, fibronektyny, lamininy, elastyny, α_1 -antyproteazy, transformującego czynnika wzrostu β (TNF- β), interleukiny 1 β (IL-1 β), proMMP-9 i proMMP-13. Substratami dla MMP-9 (żelatynaza B) poza żelatyną są kolagen typu: III, IV, V, VII, X, XI, fibronektyna, laminina, elastyna, witronektyna, α_1 -antyproteaza, TNF- β , IL-1 β oraz plazminogen. Dzięki swej aktywności substratowej żelatynazy powodują rozpad białek przestrzeni zewnątrzkomórkowej, który umożliwia migrację i proliferację komórek mięśniówki gładkiej naczyń oraz naciekanie przez monocyty blaszki wewnętrznej ściany naczyniowej [2].

CEL PRACY

Celem pracy była ocena stężenia metaloproteinazy 2 i metaloproteinazy 9 w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze oraz zbadanie korelacji pomiędzy poziomem MMP-2 i MMP-9 oraz biochemicznymi wykładnikami wybranych zaburzeń metabolicznych takich jak: stężenie glukozy na czczo, stężenia parametrów gospodarki lipidowej, homocysteiny i przewlekłego stanu zapalnego (hsCRP) oraz wiekiem, ciśnieniem tętniczym i BMI.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem zostało objętych 38 chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, w wieku od 21 do 69 lat (21 mężczyźni i 17 kobiet) leczonych w Katedrze i Klinice Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Do badania zakwalifikowano osoby, których ciśnienie tętnicze zmierzone na tętnicy

ramieniowej było równe lub wyższe niż 140/90 mm Hg. Do badania nie byli kwalifikowani pacjenci, u których stwierdzono: choroby nerek, nowotwory, łuszczycę, choroby endokrynologiczne oraz ostry stan zapalny. Grupę kontrolną stanowiło 11 zdrowych ochotników. U pacjentów z grupy badanej i kontrolnej wykonano badania laboratoryjne zalecane przez Polskie Towarzystwo Nadciśnienia Tętniczego. Wyniki badań wykazały, że wśród zakwalifikowanych do badania pacjentów u 19 (50%) występowały zaburzenia gospodarki węglowodanowej a u 26 (68%) zaburzenia gospodarki lipidowej i lipoproteinowej. Ponadto u 25 chorych na nadciśnienie tętnicze obserwowano hiperhomocysteinemię (66%). Wybrane parametry charakterystyki klinicznej i laboratoryjnej badanej grupy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze i osób z grupy kontrolnej przedstawione zostały w tabelach 1 i 2. Po wyrażeniu zgody na udział w badaniu klinicznym w surowicy wszystkich pacjentów wykonano oznaczenia stężenia metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 techniką ELISA, przy zastosowaniu testów firmy R&D. Zawartość homocysteiny w surowicy oznaczano metodą immunoenzymatyczną przy zastosowaniu testów firmy Siemens na analizatorze ADVIA Centaur XP. Stężenie białka C-reaktywnego oznaczono ultraczułą metodą turbidymetryczną na analizatorze Dimension EXL. Pozostałe badania biochemiczne wykonano rutynowymi metodami z zastosowaniem testów firmy Siemens na analizatorze Dimension EXL. Uzyskane wyniki parametrów klinicznych i badań laboratoryjnych poddano analizie statystycznej, za pomocą programu komputerowego STATISTICA. Test Shapiro-Wilka zastosowano do zbadania, czy otrzymane parametry i wyniki badań podlegają rozkładowi normalnemu. W celu określenia, czy różnice pomiędzy wynikami uzyskanymi u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze i osób zdrowych są istotne

Tabela 1

Charakterystyka kliniczna pacjentów z grupy kontrolnej i chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

Parametr	Grupa kontrolna N = 11	Grupa badana N = 45
Wiek (lata)		*
Średnia	43,6 ± 8,1	52,8 ± 12,2
Mediana	45	55
Min-max	31–57	21–61
Płeć		
K	7	19
M	4	26
Ciśnienie skurczowe [mm Hg]		*
Średnia	111,3 ± 12,6	152,6 ± 22,3
Mediana	117	140
Min-max	90–126	130–220
Ciśnienie rozkurczowe [mm Hg]		*
Średnia	71,4 ± 7,6	94,1 ± 12,0
Mediana	71	90
Min-max	57–80	77–140
Tętno		
Średnia	68,5 ± 6,5	72,8 ±
Mediana	70,0	73,5
Min-max	56–79	52–90
BMI		*
Średnia	22,9 ± 2,7	34,2 ± 7,4
Mediana	23,0	32,5
Min-max	19–27	24–60

*różnica statystycznie istotna w porównaniu z grupą kontrolną, $p < 0,05$; BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała

statystycznie użyto testów: t-Studenta, Manna-Whitneya i Wilcozona. Do oceny korelacji pomiędzy stężeniami metaloproteinaz w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze oraz pomiędzy stężeniami metaloproteinaz a stężeniem parametrów gospodarki lipidowej, glukozy, homocysteiny i hsCRP wykorzystano test Spearmana i Pearsona. Wszystkie hipotezy statystyczne przyjmowano na poziomie istotności $p < 0,05$.

WYNIKI

Średnie stężenie MMP-2 w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze było podobne jak w surowicy pacjentów

z grupy kontrolnej (tab. 3). U żadnego z pacjentów nie zaobserwowano wzrostu stężenia MMP-2 powyżej górnej granicy wartości referencyjnej (> 301 ng/ml). Inne wartości otrzymano w przypadku oznaczania stężenia MMP-9. Średnie stężenie MMP-9 w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze było wyższe niż u osób zdrowych (tab. 3). Różnica ta nie wykazywała jednak cech znamienności statystycznej.

U 10 (26,3%) chorych na nadciśnienie tętnicze obserwowano wzrost stężenia MMP-9 powyżej górnej granicy wartości referencyjnych (> 705 ng/ml).

Analiza statystyczna nie wykazała istotnych zależności pomiędzy stężeniem MMP-2

Tabela 2

Wybrane parametry laboratoryjne pacjentów z grupy kontrolnej i chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

Parametr	Grupa kontrolna N = 11	Chorzy na pierwotne nadciśnienie tętnicze N = 38
WBC × 10⁹/l		
Średnia	6,79 ± 0,72	7,45 ± 1,89
Mediana	6,60	7,25
Min-max	5,97–7,97	3,58–11,91
RBC × 10¹²/l		
Średnia	4,53 ± 0,38	4,75 ± 0,40
Mediana	4,52	4,79
Min-max	3,72–5,11	3,93–5,77
PLT × 10⁹/l		
Średnia	269,40 ± 60,94	262,97 ± 47,89
Mediana	261,50	257,00
Min-max	174–352	168–391
HGB [mmol/l]		
Średnia	8,58 ± 0,66	8,73 ± 0,59
Mediana	8,30	8,50
Min-max	7,50–9,55	7,40–10,30
Kreatynina [μmol/l]		
Średnia	74,00 ± 11,83	77,08 ± 16,36
Mediana	78,00	78,00
Min-max	58,00–91,00	39,00–110,00
Sód [mmol/l]		
Średnia	141,63 ± 2,62	141,39 ± 2,62
Mediana	142	142
Min-max	139–143	134–146
Potas [mmol/l]		*
Średnia	4,16 ± 0,14	4,38 ± 0,43
Mediana	4,20	4,45
Min-max	3,90–4,40	3,10–5,20
Glukoza [mmol/l]		*
Średnia	4,82 ± 0,73	6,58 ± 2,49
Mediana	4,78	5,80
Min-max	3,67–6,13	4,15–13,79
Cholesterol całkowity [mmol/l]		
Średnia	5,15 ± 0,87	5,30 ± 0,99
Mediana	5,13	5,10
Min-max	3,59–6,91	3,38–7,22
Cholesterol frakcji HDL [mmol/l]		
Średnia	1,57 ± 0,50	1,27 ± 0,36
Mediana	1,28	1,26
Min-max	0,99–2,18	0,57–2,12
Cholesterol frakcji LDL [mmol/l]		
Średnia	3,15 ± 0,79	3,01
Mediana	2,60	2,83
Min-max	2,20–4,20	1,55–4,97

→

Tabela 2 cd.

Wybrane parametry laboratoryjne pacjentów z grupy kontrolnej i chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

Triglicerydy [mmol/l]		*
Średnia	0,89 ± 0,46	1,85 ± 1,03
Mediana	0,89	1,57
Min-max	0,30–1,79	0,43–4,82
CRP [mg/ml]		*
Średnia	0,93 ± 0,58	3,76 ± 1,99
Mediana	0,54	3,20
Min-max	0,50–2,30	1,10–8,80
Homocysteina [μmol/l]		*
Średnia	10,33 ± 2,19	16,38 ± 5,66
Mediana	10,09	15,30
Min-max	7,67–16,11	8,53–34,00

*różnica statystycznie istotna w porównaniu z grupą kontrolną, $p < 0,05$; WBC (*white blood cells*) — krwinki białe; RBC (*red blood cells*) — krwinki czerwone; PLT (*platelet count*) — płytki krwi; HDL (*high-density lipoproteins*) — lipoproteiny wysokiej gęstości; LDL (*low-density lipoproteins*) — lipoproteiny niskiej gęstości; CRP (*C-reactive protein*) — białko C-reaktywne; BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała

Tabela 3

Stężenie metaloproteinaz MMP-2 i MMP-9 w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

Parametr	Grupa kontrolna N = 11	Chorzy na pierwotne nadciśnienie tętnicze N = 38
MMP-2 [ng/ml]		
Średnia ± SD	159,80 ± 33,51	158,85 ± 34,36
Mediana	159,11	158,07
Min-max	101,84–236,19	96,03–267,44
Wartości referencyjne: 161–301 ng/ml		
< wartości referencyjnych	N = 6 (54,5%)	N = 21 (55,3%)
w zakresie wartości referencyjnych	N = 5 (45,5%)	N = 17 (44,7%)
> wartości referencyjnych	N = 0 (0,0%)	N = 0
MMP-9 [ng/ml]		
Średnia ± SD	279,19 ± 142,50	590,90 ± 520,08
Mediana	212,29	400,86
Min-max	154,66–623,86	63,07–2000,00
Wartości referencyjne: 169–705 ng/ml		
< wartości referencyjnych	N = 1 (9,1%)	N = 7 (18,4%)
w zakresie wartości referencyjnych	N = 10 (90,9%)	N = 21 (55,3%)
> wartości referencyjnych	N = 0 (90,0%)	N = 10 (26,3%)

SD (*standard deviation*) — odchylenie standardowe

Tabela 4

Korelacje pomiędzy stężeniem metaloproteinazy MMP-2 a wiekiem, BMI, ciśnieniem skurczowym, ciśnieniem rozkurczowym, stężeniem: glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, cholesterolu frakcji LDL, triglicerydów, hsCRP i homocysteiny u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

Korelacja pomiędzy stężeniem MMP-2 a:	Współczynnik korelacji R-Pearsona	Poziom istotności statystycznej — p
Wiek	0,2520	0,1269
BMI	0,0078	0,9630
Ciśnieniem skurczowym	-0,1399	0,4021
Ciśnieniem rozkurczowym	-0,1491	0,3717
Stężeniem:		
glukozy	0,1131	0,4990
cholesterolu całkowitego	-0,0867	0,6049
cholesterolu frakcji HDL	0,3111	0,0572
cholesterolu frakcji LDL	-0,1481	0,3750
triglicerydów	-0,2441	0,1397
hsCRP	-0,1233	0,4608
homocysteiny	-0,1613	0,3335

BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała; HDL (*high-density lipoproteins*) — lipoproteiny wysokiej gęstości; LDL (*low-density lipoproteins*) — lipoproteiny niskiej gęstości; hsCRP (*high sensitivity C-reactive protein*) — białko C-reaktywne wysokiej czułości

a parametrami klinicznymi (wiek, ciśnienie skurczowe i rozkurczowe, BMI) oraz stężeniem glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, LDL, triglicerydów, hsCRP i homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze (tab. 4). Istotną korelację otrzymano, kiedy analizowano zależność stężenia MMP-9 i stężenia homocysteiny, natomiast dla pozostałych badanych parametrów biochemicznych oraz klinicznych i stężenia MMP-9 nie stwierdzono takiej zależności (tab. 5).

DYSKUSJA

W przebiegu nadciśnienia tętniczego dochodzi do uszkodzenia śródbłonna prowadzącego do przebudowy naczyń krwionośnych. Proces przebudowy naczyń wiąże się z dysfunkcją endothelium oraz przerostem i hiperplazją mięśni gładkich naczyń co w efekcie powoduje pogrubienie ścian tętnic i zwiększenie ich sztywności. Jednym z etapów inicjujących proces przebudowy naczyń krwionośnych jest degradacja ich

błony podstawnej i macierzy zewnątrzkomórkowej.

Głównym składnikiem błony podstawnej naczyń jest kolagen typu IV a wysoką aktywność substratową w stosunku do kolagenu typu IV wykazują metaloproteinazy: MMP-2 i MMP-9 [5]. Obecne w ścianie naczyń krwionośnych MMP-2 i MMP-9 pochodzą z komórek mięśniówki gładkiej oraz limfocytów T. MMP-9 może być także wytwarzana przez komórki endothelium, makrofagi, fibroblasty i komórki tłuszczne [6]. Aktywność metaloproteinaz jest regulowana na poziomie transkrypcji ich genów i aktywacji proenzymów (proMMP), inhibicji przez TIMPs oraz interakcji z białkami strukturalnymi macierzy zewnątrzkomórkowej i innymi MMPs [7]. Działanie MMP-2 i MMP-9 nie ogranicza się do degradacji kolagenu typu IV ale także wpływa na utrzymanie ciągłości tkanki, proces apoptozy i uwalnianie cytokin [8].

Na związek żelatynaz z patogenezą nadciśnienia tętniczego wskazują wyniki wielu

Tabela 5

Korelacje pomiędzy stężeniem metaloproteinazy MMP-9 a wiekiem, BMI, ciśnieniem skurczowym, ciśnieniem rozkurczowym, stężeniem: glukozy, cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, cholesterolu frakcji LDL, triglicerydów, hsCRP i homocysteiny u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze

Korelacja pomiędzy stężeniem MMP-9 a:	Współczynnik korelacji R-Spearmana	Poziom istotności statystycznej — p
Wiekem	0,0131	0,5378
BMI	-0,1010	0,5462
Ciśnieniem skurczowym	0,1692	0,3098
Ciśnieniem rozkurczowym	0,1202	0,4720
Stężeniem:		
glukozy na czczo	-0,0022	0,9896
cholesterolu całkowitego	0,1963	0,2374
cholesterolu frakcji HDL	0,0468	0,7800
cholesterolu frakcji LDL	0,1061	0,5261
triglicerydów	0,1649	0,3224
hsCRP	0,0222	0,8946
homocysteiny	0,3972	0,0136

BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała; HDL (*high-density lipoproteins*) — lipoproteiny wysokiej gęstości; LDL (*low-density lipoproteins*) — lipoproteiny niskiej gęstości; hsCRP (*high sensitivity C-reactive protein*) — białko C-reaktywne wysokiej czułości

dotychczas przeprowadzonych badań. Badania eksperymentalne wykazały, że siły hemodynamiczne występujące w przebiegu nadciśnienia mają wpływ na aktywność MMPs [9]. Badania na modelach zwierzęcych dowodzą, że podwyższenie ciśnienia tętniczego aktywuje MMP-2 i MMP-9 w tętnicach. Taki wynik eksperymentu uzyskał Chesler, badając tętnice szyjne świni poddane działaniu sił naprężających [10]. Także wyniki badań Flamanta i wsp., przeprowadzonych na genetycznie zmodyfikowanych myszach wskazują, że wysokie ciśnienie tętnicze odgrywa istotną rolę w zwiększaniu syntezy i aktywności MMP-2 i MMP-9. Z kolei Sun i wsp., prowadząc badania na hodowlach komórek śródbłonna (HUVEC) dowiedli, że powodowany przez *shear stress* wzrost aktywności MMP-9 jest związany z komórkowym szlakiem sygnałowym ERK1/2-NF-kappaB i działaniem integryny-p38 MAPK [11]. We wczesnej fazie nadciśnienia wzrost aktywności metaloproteinaz może być korzystny, gdyż ich wpływ

na przebudowę naczyń powoduje zwiększenie rozciągliwości naczyń, co początkowo skutkuje zmniejszeniem wzrostu ciśnienia skurczowego. Tym niemniej długotrwały wzrost aktywności metaloproteinaz w krążeniu ostatecznie przyczynia się do trwałej przebudowy i usztywnienia naczyń krwionośnych [12].

Wyniki badań eksperymentalnych znajdują potwierdzenie w badaniach klinicznych. Derosa i wsp. wykazali, że u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, niepoddanych leczeniu hipotensyjnemu, stężenie i aktywność MMP-2 i MMP-9 w osoczu były istotnie wyższe w porównaniu z grupą kontrolną. U chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze badacze zaobserwowali także znamienne wzrost stężenia w krwi inhibitora TIMP-1 [13]. Yasmin i wsp. oznaczali w krwi 116 pacjentów z izolowanym nadciśnieniem skurczowym, stężenie MMP-2 i MMP-9, aktywność elastazy oraz obliczali wskaźnik sztywności tętnic. Stężenie MMP-2 i MMP-9 oraz aktywność elastazy

►► Obecne w ścianie naczyń krwionośnych MMP-2 i MMP-9 pochodzą z komórek mięśniówki gładkiej oraz limfocytów T. MMP-9 może być także wytwarzana przez komórki endotelium, makrofagi, fibroblasty i komórki tłuszczne ◀◀

►► Aktywność metaloproteinaz jest regulowana na poziomie transkrypcji ich genów i aktywacji proMMP, inhibicji przez TIMPs oraz interakcji z białkami strukturalnymi macierzy zewnątrzkomórkowej i innymi MMPs ◀◀

►► Działanie MMP-2 i MMP-9 nie ogranicza się do degradacji kolagenu typu IV, ale także wpływa na utrzymanie ciągłości tkanki, proces apoptozy i uwalnianie cytokin ◀◀

►► We wczesnej fazie nadciśnienia wzrost aktywności metaloproteinaz może być korzystny, gdyż ich wpływ na przebudowę naczyń powoduje zwiększenie rozciągliwości naczyń, co początkowo skutkuje zmniejszeniem wzrostu ciśnienia skurczowego. Tym niemniej długotrwały wzrost aktywności metaloproteinaz w krążeniu ostatecznie przyczynia się do trwałej przebudowy i usztywnienia naczyń krwionośnych ◀◀

była znamienne wyższa u osób z nadciśnieniem w porównaniu do grupy kontrolnej, co wykazywało dodatnią korelację ze wzrostem ciśnienia skurczowego i wskaźnika sztywności tętnic [14]. Zwiększone stężenie MMP-9 u pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym obserwowali również Tan i wsp. [15]. Z kolei Friese i wsp. wykazali u chorych na nadciśnienie tętnicze istotnie wyższe wartości stężeń MMP-9 w porównaniu z grupą osób zdrowych, ale stężenia MMP-2 nie wykazywały istotnych różnic w porównywanych grupach pacjentów [16]. Także wyniki Gkaliagkousi i wsp. uzyskane u nieleczonych chorych z nadciśnieniem tętniczym I stopnia wskazują, że spośród MMP-2 i MMP-9 tylko aktywność MMP-9 wzrasta na początku rozwoju nadciśnienia. Autorzy ci sugerują, że właśnie wzrost MMP-9 może wskazywać na dysfunkcję naczyń i stanowić czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u tych chorych [17]. W badaniach własnych uzyskano wyniki zgodne z przedstawionymi przez Friese i wsp. oraz Gkaliagkousi i wsp. U pacjentów z pierwotnym nadciśnieniem tętniczym obserwowano wzrost stężenia MMP-9 w porównaniu z grupą kontrolną (590,90 v. 279,19 ng/ml), natomiast stężenie MMP-2 u osób chorujących na to schorzenie było porównywalne do stężenia w grupie kontrolnej (158,85 v. 159,80 ng/ml). Przy kwalifikowaniu pacjentów do badania klinicznego staraliśmy się uzyskać jednorodną grupę chorych tylko na pierwotne nadciśnienie tętnicze, u części badanych chorych występowały jednak dodatkowe zaburzenia, które mogły wpływać na stężenia metaloproteinaz w krwi.

Na uzyskane wyniki oznaczeń MMP-2 i MMP-9 mogły mieć wpływ zaburzenia gospodarki węglowodanowej, gdyż w przebiegu cukrzycy obserwuje się zaburzenie równowagi pomiędzy stężeniem metaloproteinaz i inhibitorów [18]. Wyniki badań własnych nie wykazały jednak istotnych zależności pomiędzy stężeniem MMP-2

i MMP-9 a stężeniem glukozy na czczo w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

Zaburzenia gospodarki lipidowej także mogły spowodować zmiany stężenia metaloproteinaz w surowicy. Badania eksperymentalne Xu i wsp. wykazały, że zmodyfikowane oksydacyjnie cząstki LDL pochodzące z makrofagów blaszek miażdżycowych stymulują ekspresję MMP-9 obniżając jednocześnie ekspresję inhibitora TIMP-1, natomiast HDL niweluje ten efekt [19]. W swych badaniach klinicznych Derosa i wsp. stwierdzili wyższe stężenia MMP-2, MMP-9 w krwi chorych na mieszaną dyslipidemię w porównaniu z grupą kontrolną. Stężenia te wykazywały korelację ze stężeniami cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji LDL i stężeniem białka CRP [20]. Analiza statystyczna wyników badań własnych nie potwierdziła tych zależności. Nie uzyskaliśmy istotnych korelacji pomiędzy stężeniem MMP-2 i MMP-9 a stężeniem cholesterolu całkowitego, cholesterolu frakcji HDL, LDL, triglicerydów i hsCRP.

Wielu badaczy sugeruje, że metaloproteinazy modulują proces adipogenezy i mogą mieć związek z rozwojem otyłości. W badaniach Florys i wsp., w grupie dzieci i młodzieży z otyłością prostą zaobserwowano wyższe stężenia MMP-9 i niższe stężenia MMP-2 niż u osób zdrowych. U osób otyłych z towarzyszącym nadciśnieniem stwierdzono wyższe stężenie MMP-9 w porównaniu z osobami otyłymi normotensyjnymi. Wykazano także dodatnią korelację między MMP-9 a BMI i ujemną korelację między MMP-2 a BMI [21]. Potwierdzają to także badania Derosa i wsp., którzy uzyskali istotnie wyższe stężenia MMP-2 i MMP-9 u pacjentów otyłych w porównaniu z osobami o prawidłowym BMI [22]. Wyniki badań własnych nie wykazały jednak istotnych zależności pomiędzy stężeniem MMP-2 i MMP-9 a BMI u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze.

Przy ocenie stężenia MMP-2 i MMP-9 należy również wziąć pod uwagę fakt występowania u części badanych pacjentów hiperhomocysteinemii. Wysoki poziom tego aminokwasu jest wymieniany jako jeden z czynników wpływających na wzrost stężenia metaloproteinaz, szczególnie MMP-9 [23]. Związek pomiędzy hiperhomocysteinemią a ekspresją genu dla MMP-9 w komórkach śródbłonna naczyniowego stwierdzili w swej pracy eksperymentalnej Moshal i wsp. Postawili oni hipotezę, że homocysteina oddziałuje poprzez aktywację kinaz ERK 1 i 2 (*extracellular signal-regulated kinase*) na szlak sygnałów komórkowych, prowadząc do syntezy MMP-9 w komórkach endotelium [24]. Analiza wyników badań własnych wykazała istotną dodatnią korelację pomiędzy stężeniem MMP-9 a stężeniem homocysteiny w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze. Można przypuszczać, że u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze hiperhomocysteinemia wpływa na wzrost wytwarzania cząsteczek metaloproteinazy 9 w komórkach śródbłonna naczyń.

Wyniki metaanalizy przeprowadzonej w 2012 roku wskazują, że MMP-2 i MMP-9 mogą stanowić wskaźniki remodelingu naczyń krwionośnych i jeśli zostanie to potwierdzone w toku dalszych prospektywnych badaniach klinicznych, mogą być wykorzystywane do oceny ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u chorych na nadciśnienie tętnicze [25].

Przedstawione w niniejszej pracy badania należy więc kontynuować, aby zebrać i opracować dane dla liczniejszej grupy badanych, dokładnie wyselekcjonowanych pod względem zaburzeń metabolicznych towarzyszących nadciśnieniu tętniczemu.

WNIOSKI

Stężenia metaloproteinazy-2 i metaloproteinazy-9 w surowicy chorych na nadciśnienie tętnicze nie różniły się znamienne

statystycznie z wielkością tych parametrów u osób zdrowych. Stężenia MMP-9 były jednak wyższe u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, a u 26,3% chorych przekraczały wartości referencyjne. Uzyskana istotna korelacja pomiędzy stężeniem MMP-9 a stężeniem homocysteiny wskazuje na współzależność pomiędzy tymi parametrami. Ocena stężenia MMP-2 i MMP-9 w surowicy chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze z zaburzeniami metabolicznymi wymaga dalszych badań z udziałem większej liczby pacjentów.

PIŚMIENNICTWO

1. Zdrojewski T. Częstość występowania i świadomość nadciśnienia tętniczego w Polsce i na świecie. *Postępy Nauk Medycznych*. 2011; 3: 4–10.
2. Nagase H., Visse R., Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc. Res.* 2006; 69: 562–573.
3. Śliwowska I., Kopczyński Z. Metalloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej, charakterystyka biochemiczna i kliniczna wartość oznaczania u chorych na raka piersi. *Wspol. Onkol.* 2005; 9: 327–325.
4. Galliera E., Tacchini L., Corsi Romanelli M.M. Matrix metalloproteinases as biomarkers of disease: updates and new insights. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2014. pii: /j/cclm.ahead-of-print/cclm-2014-0520/cclm-2014-0520.xml.
5. Łapka A., Goździalska A., Jaśkiewicz J. Rola metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w nowotworach piersi, ze szczególnym uwzględnieniem roli żelatynazy A oraz żelatynazy B. *Post. Biol. Kom.* 2006; 4: 683–695.
6. Flamant M., Placier S., Dubroca C. i wsp. Role of matrix metalloproteinases in early hypertensive vascular remodeling. *Hypertension* 2007; 50: 212–218.
7. Johnson Ch., Galis Z. Matrix metalloproteinase-2 and -9 differentially regulate smooth muscle cell migration and cell-mediated collagen organization. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 54–60.
8. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ. Res.* 2003; 92: 827–839.
9. Chen Q., Jin M., Yang F., Zhu J., Xiao Q., Zhang L. Matrix metalloproteinases: inflammatory regulators of cell behaviors in vascular formation and remodeling. *Mediators Inflamm.* 2013; 2013: 928315.
10. Chesler N.C., Ku D.N., Galis Z.S. Transmural pressure induces matrix-degrading activity in porcine arteries ex vivo. *Am. J. Physiol.* 1999; 277: H2002–H2009.
11. Sun H.W., Li C.J., Chen H.Q., Lin H.L., Lv H.X., Zhang Y., Zhang M. Involvement of integrins, MAPK, and NF-kappaB in regulation of the shear stress-induced MMP-9 expression in endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007; 353: 152–158.

► Wyniki metaanalizy przeprowadzonej w 2012 roku wskazują, że MMP-2 i MMP-9 mogą stanowić wskaźniki remodelingu naczyń krwionośnych i jeśli zostanie to potwierdzone w toku dalszych prospektywnych badaniach klinicznych, mogą być wykorzystywane do oceny ryzyka chorób sercowo-naczyniowych u chorych na nadciśnienie tętnicze ◀◀

► Stężenia MMP-2 i MMP-9 w surowicy chorych na nadciśnienie tętnicze nie różniły się znamienne statystycznie z wielkością tych parametrów u osób zdrowych. Stężenia MMP-9 były jednak wyższe u chorych na pierwotne nadciśnienie tętnicze, a u 26,3% chorych przekraczały wartości referencyjne. Uzyskana istotna korelacja pomiędzy stężeniem MMP-9 a stężeniem homocysteiny wskazuje na współzależność pomiędzy tymi parametrami ◀◀

12. Flamant M., Placier S., Dubroca C. i wsp. Role of matrix metalloproteinases in early hypertensive vascular remodeling. *Hypertension* 2007; 50: 212–218.
13. Derosa G., D'Angelo A, Ciccarelli L. i wsp. Matrix metalloproteinase-2, -9, and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in patients with hypertension. *Endothelium* 2006; 13: 227–231.
14. Yasmin, Wallace S., McEniery C. i wsp. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005; 25: 372–378.
15. Tan J., Hua Q., Xing X., Wen J., Liu R., Yang Z. Impact of the metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 system on large arterial stiffness in patients with essential hypertension. *Hypertens. Res.* 2007; 30: 959–963.
16. Friese R., Rao F., Khandrika S. i wsp. Matrix metalloproteinases: discrete elevations in essential hypertension and hypertensive end-stage renal disease. *Clin. Exp. Hypertens.* 2009; 31: 521–533.
17. Gkaliagkousi E., Doumas M., Gavriilaki E. i wsp. Elevated levels of MMP-9 in untreated patients with stage I essential hypertension. *Clin. Exp. Hypertens.* 2012; 34: 561–566.
18. Rogowicz A., Zozulińska D., Wierusz-Wysocka B. The role of matrix metalloproteinases in the development of vascular complications of diabetes mellitus-clinical implications. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2007; 117: 43–48.
19. Xu X.P., Meisel S.R., Ong J.M. i wsp. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 1999; 99: 993–998.
20. Derosa G., Maffioli P., D'Angelo A. i wsp. Evaluation of metalloproteinase 2 and 9 levels and their inhibitors in combined dyslipidemia. *Clin. Invest. Med.* 2009; 32: E124–132.
21. Florys B., Głowińska-Olszewska B., Urban M. Ocena stężenia wybranych metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-2, MMP-9) u dzieci i młodzieży z otyłością prostą. *Endokrynologia, Diabetologia i Choroby Przemiany Materii Wieku Rozwojowego* 2006; 12: 179–183.
22. Derosa G., Ferrari I., D'Angelo A. i wsp. Matrix metalloproteinase-2 and -9 levels in obese patients. *Endothelium* 2008; 15: 219–224.
23. Dimas G., Iliadis F., Grekas D. Matrix metalloproteinases, atherosclerosis, proteinuria and kidney disease: Linkage-based approaches. *Hippokratia* 2013; 17: 292–297.
24. Moshal K.S., Sen U., Tyagi N. i wsp. Regulation of homocysteine-induced MMP-9 by ERK1/2 pathway. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2006; 290: C883–891.
25. Marchesi C., Dentali F., Nicolini E. i wsp. Plasma levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in hypertension: a systematic review and meta-analysis. *J. Hypertens.* 2012; 30: 3–16.