

Asociación de la metaloproteinasa-10 y el tabaquismo en sujetos sin enfermedad cardiovascular

José A. Páramo^a, Oscar Beloqui^b, José A. Rodríguez^a, Javier Diez^a y Josune Orbe^a

^aÁrea de Ciencias Cardiovasculares. CIMA. Universidad de Navarra. Pamplona. Navarra. España.

^bDepartamento de Medicina Interna. Clínica Universitaria. Universidad de Navarra. Pamplona. Navarra. España.

Introducción y objetivos. El tabaquismo es un importante factor de riesgo cardiovascular cuyo mecanismo no se ha definido con precisión, aunque se ha propuesto que las alteraciones del balance entre síntesis y degradación de la matriz extracelular (MEC) pueden ser relevantes. El objetivo de este estudio es examinar si existe una asociación independiente entre el tabaquismo y la concentración circulante de metaloproteinasas (MMP) en sujetos sin síntomas cardiovasculares.

Métodos. Se ha analizado el perfil metabólico, el espesor íntima-media carotídeo (EIMc), marcadores inflamatorios (fibrinógeno, proteína C reactiva, interleucina 6) y de daño endotelial (factor de von Willebrand), así como la concentración de MMP (1, 9 y 10) y su inhibidor (TIMP-1), en 400 sujetos asintomáticos con factores de riesgo cardiovascular, divididos en no fumadores ($n = 195$), fumadores ($n = 118$) y ex fumadores ($n = 87$). Asimismo se determinó el riesgo vascular total (PROCAM y REGICOR).

Resultados. El grupo de fumadores presentaba un aumento significativo de MMP-1 ($p < 0,05$) y MMP-10 ($p < 0,001$) respecto a los no fumadores, sin diferencias en MMP-9, TIMP-1, EIMc u otros parámetros inflamatorios. Las concentraciones de MMP-10 se correlacionaron con los índices PROCAM y REGICOR ($p < 0,001$). La asociación entre tabaquismo y MMP-10 se mantuvo en el análisis multivariable tras ajustar por edad, sexo y factores de riesgo cardiovascular ($p < 0,01$). En análisis de regresión múltiple, el tabaquismo contribuyó al 28% de la variabilidad en las cifras de MMP-10.

Conclusiones. La MMP-10 se asoció de forma independiente con el tabaquismo en sujetos asintomáticos. La relación entre MMP-10 y MEC podría indicar un papel de esa MMP en el proceso aterosclerótico asociado al tabaquismo.

Palabras clave: Tabaquismo. Metaloproteinasas. Inflamación. Riesgo cardiovascular.

Association Between Matrix Metalloproteinase-10 Concentration and Smoking in Individuals Without Cardiovascular Disease

Introduction and objectives. Smoking is an important cardiovascular risk factor whose underlying mechanism is incompletely understood. However, it has been suggested that alterations in the balance between synthesis and degradation of the extracellular matrix (ECM) may play a role. The aim of this study was to determine whether there is an independent association between smoking and the concentration of circulating metalloproteinases (MMPs) in individuals without cardiovascular disease.

Methods. Metabolic parameters, the carotid intima-media thickness (IMT), inflammatory markers (fibrinogen, C-reactive protein and interleukin-6), markers of endothelial damage (e.g., von Willebrand factor), and the concentration of MMP-1, -9 and -10 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) were assessed in 400 asymptomatic individuals with cardiovascular risk factors. Subjects were divided into non-smokers ($n=195$), smokers ($n=118$) and former smokers ($n=87$). In addition, global cardiovascular risk was determined from PROCAM and REGICOR scores.

Results. Both MMP-1 and MMP-10 concentrations were significantly higher in smokers than non-smokers ($P<.05$ and $P<.001$, respectively), though there was no difference in the levels of MMP-9, TIMP-1, IMT and other inflammatory parameters. There were positive correlations between the MMP-10 concentration and PROCAM and REGICOR scores ($P<.001$). Multivariate analysis showed that there was still an association between smoking and the MMP-10 concentration after adjustment for age, sex and other cardiovascular risk factors ($P<.001$). Multiple regression analysis showed that smoking accounted for 28% of the variability in the MMP-10 concentration.

Conclusions. There was an independent association between smoking and the MMP-10 concentration in asymptomatic individuals. This relationship between MMP-10 and the ECM may indicate a mechanism through which this MMP contributes to smoking-related atherosclerosis.

Financiado por UTE proyecto CIMA (Universidad de Navarra, Pamplona, Navarra, España) y Ministerio de Sanidad y Consumo, Instituto de Salud Carlos III (RECAVA RD06/0014/0008).

Correspondencia: Dr. J.A. Páramo.
Laboratorio de Aterosclerosis. Área de Ciencias Cardiovasculares, CIMA.
Avda. Pío XII, 55. 31008 Pamplona. Navarra. España.
Correo electrónico: japaramo@unav.es

Recibido el 20 de febrero de 2008.

Aceptado para su publicación el 29 de agosto de 2008.

Key words: *Smoking. Metalloproteinases. Inflammation. Cardiovascular risk.*

Full English text available from: www.revespcardiol.org

ABREVIATURAS

EIMc: espesor íntima-media carotídeo.
IL-6: interleucina 6.
MEC: matriz extracelular.
MMP: metaloproteinasas.
MT-MMP: metaloproteinasas de tipo membrana.
TIMP: inhibidor tisular de las metaloproteinasas.

INTRODUCCIÓN

El tabaquismo causa un 11% de toda la mortalidad cardiovascular¹, mientras que estudios recientes indican que en España la incidencia de enfermedad cardiovascular atribuible al tabaquismo en varones es de aproximadamente un 40%². El consumo de tabaco incrementa de manera independiente el riesgo de enfermedad aterosclerótica coronaria, cerebrovascular y periférica³, que se extiende al fumador pasivo⁴. Sin embargo, la patogenia de la enfermedad cardiovascular asociada con el tabaquismo no se conoce con precisión, y se la ha relacionado con la disfunción endotelial, alteraciones del balance entre coagulación y fibrinólisis y modificaciones del metabolismo lipídico^{5,6}, manifestaciones en las que la inflamación vascular y el estrés oxidativo tendrían un papel central⁷.

Estudios recientes indican que una alteración del balance entre síntesis y degradación de la matriz extracelular (MEC) también podría contribuir al desarrollo de la enfermedad cardiovascular asociada al tabaquismo⁸. Las metaloproteinasas (MMP), una familia de endopeptidasas que degrada diversos componentes de la MEC, se clasifican en subgrupos basados en su estructura, la especificidad por el sustrato y la unión a membranas: collagenasas (MMP-1, MMP-8, MMP-13), estromalisinas (MMP-3, MMP-10, MMP-11), gelatinasas (MMP-2, MMP-9), tipo membrana (MT-MMP) y otras (matrilisina, metaloelastasa, etc.). La actividad de las MMP está regulada dentro y fuera de las células de tres maneras: transcripcional, postraduccional y a través de interacción con inhibidores específicos (TIMP)⁹.

Las MMP se han implicado en los procesos inflamatorios, angiogénicos y proteolíticos que acompañan el remodelado y la rotura o erosión de la placa vulnerable también asociados con el tabaquismo⁸. También se ha relacionado un aumento de diversas MMP con la enfermedad cardiovascular establecida, lo que ha llevado a proponer su uso como biomarcador⁹⁻¹¹, y es un

hecho conocido que son importantes en el desarrollo de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), la segunda causa de mortalidad asociada al tabaquismo^{12,13}.

Estudios recientes de nuestro grupo han demostrado una estrecha relación entre inflamación, aterosclerosis subclínica e incremento de la MMP-10 (estromalisina 2) circulante^{14,15}, una MMP que degrada colágenos tipo III y IV, elastina y proteoglucanos, que también se encuentra aumentada en placas de ateroma de pacientes con aterosclerosis avanzada¹⁴.

El objetivo de este trabajo es examinar, en una serie de sujetos asintomáticos, si la MMP-10 se asocia con el tabaquismo independientemente de otros factores de riesgo, en cuyo caso podría ser relevante en el proceso aterogénico a través de sus efectos en la MEC. Para ello se ha cuantificado la concentración circulante de diversas MMP y TIMP-1 en sujetos fumadores y no fumadores sin enfermedad cardiovascular establecida.

MÉTODOS

Se analizó a un grupo de 400 sujetos aparentemente sanos (media de edad [intervalo], 54,3 [20-80] años), principalmente varones, previamente caracterizado¹⁵ y con muestras recogidas de forma consecutiva en el periodo 2003-2005, que acudieron para realización de un chequeo general en la consulta externa del Departamento de Medicina Interna de la Clínica Universitaria de Navarra. Los sujetos fueron seleccionados por el médico internista responsable a partir de una población de 414 sujetos sin evidencia de enfermedad cardiovascular sintomática según los siguientes criterios: *a)* ausencia de historia de enfermedad coronaria, ictus o enfermedad arterial periférica, y *b)* electrocardiograma y radiografía de tórax normales. La enfermedad coronaria fue definida por: *a)* antecedente de infarto agudo de miocardio (IAM), angina o uso de nitroglicerina, y *b)* antecedentes de angioplastia coronaria o cirugía de *bypass* aortocoronario. La enfermedad cerebrovascular fue definida como antecedente de ictus, ataque isquémico transitorio o endarterectomía carotídea. Se registraron los síntomas de claudicación intermitente y se realizó una adecuada exploración para valorar los pulsos periféricos. Otros criterios de exclusión fueron: alteración importante de la función renal (filtrado glomerular < 60 ml/min), enfermedades inflamatorias crónicas y administración de antiinflamatorios, antitrombóticos o terapia hormonal en las 2 semanas previas. Los sujetos con infección aguda según criterios clínicos también fueron excluidos.

Evaluación del tabaquismo y otros factores de riesgo cardiovascular

Se utilizó un cuestionario estandarizado sobre consumo de tabaco para clasificar a los sujetos en fuma-

dores activos (al menos 1 cigarrillo diario de promedio en el último año), nunca fumadores y ex fumadores (sin consumo de cigarrillos en el último año).

Además, se obtuvo información sobre los otros factores de riesgo aterosclerótico: diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipemia y obesidad. Se consideró hipertensos a los sujetos con presión arterial sistólica (PAS) > 139 mmHg y/o diastólica (PAD) > 89 mmHg y/o que tomaran antihipertensivos. La dislipemia se diagnosticó con valores de colesterol total $\geq$ 200 mg/dl, colesterol de las LDL (cLDL) $\geq$ 130 mg/dl, colesterol de las HDL (cHDL) $\leq$ 50 mg/dl, triglicéridos $\geq$ 150 mg/dl y/o empleo de hipolipemiantes. La obesidad se estimó por el índice de masa corporal (IMC) $\geq$ 30. La diabetes mellitus se definió con valores de glucosa > 126 mg/dl o el empleo de antidiabéticos.

Se calculó el riesgo vascular total mediante los índices REGICOR¹⁶, validado en la población española, y PROCAM¹⁷, validado en población alemana.

Se obtuvo el consentimiento informado en todos los sujetos y el estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la institución conforme a la Declaración de Helsinki (revisión de octubre de 2000).

Procedimientos

Las muestras de plasma y suero se extrajeron en ayunas (entre las 8.00 y las 10.00) por venopunción, se centrifugaron (20 min, a 1.200 g) y se congelaron a -80 °C hasta su análisis.

Perfil metabólico

Se midió el colesterol total, el cHDL, los triglicéridos y la glucosa por técnicas estándar de laboratorio, en muestras de sangre extraídas en ayunas. El cLDL se estimó con la ecuación de Friedewald.

Marcadores inflamatorios

La actividad del fibrinógeno se midió en plasma con el método de Clauss y las concentraciones de proteína C reactiva ultrasensible (PCR-us) (Immulate Diagnostic Product Corporation, Estados Unidos), interleucina (IL) 6 (Quantikine R&D Systems, Reino Unido) y factor de von Willebrand (FvW) (Asserachrom Diagnostica Stago, Francia) se determinaron mediante ELISA siguiendo las instrucciones del fabricante. Los coeficientes de variación interanalítica e intraanalítica para los ELISA fueron < 6%.

Marcadores proteolíticos

Se determinaron las concentraciones plasmáticas de MMP-1, MMP-9 y TIMP-1 y la concentración sérica de MMP-10 mediante ELISA (R&D systems, Estados

Unidos) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los coeficientes de variación interanalítica e intraanalítica para los ELISA fueron < 6%.

Determinación del espesor íntima-media carotídeo(EIMc)

Se midió el EIMc en todos los sujetos mediante ultrasonografía-Doppler de las arterias carótidas comunes (ACC), como se ha descrito previamente¹⁵, empleando un transductor lineal de 5-12 MHz (ATL 5000 HDI). El EIM se midió en áreas sin placa a 1 cm del bulbo carotídeo en cada ACC, y dos ecocardiografistas desconocedores de la información clínica determinaron el promedio de cada ACC.

Análisis estadístico

Los datos de las variables cuantitativas se expresan como media $\pm$ desviación estándar. Se estudió la normalidad de las variables mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. Los valores de PCR-us fueron previamente transformados logarítmicamente para su normalización y ulterior análisis estadístico. Se analizaron las diferencias entre las medias y las proporciones en relación con el sexo y el tabaquismo mediante las pruebas de la t de Student y de la χ^2 respectivamente, excluyendo del análisis estadístico a los ex fumadores.

Para analizar las correlaciones entre las concentraciones de los marcadores inflamatorios, proteolíticos y los factores de riesgo cardiovascular se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Se realizó un análisis de varianza (ANCOVA) ajustando por edad, sexo y factores de riesgo cardiovascular y se calcularon las medias marginales de los fumadores y los no fumadores. Se empleó un análisis multivariable de regresión lineal para comprobar si la asociación de MMP-10 y tabaquismo era independiente de dichos factores de riesgo y la importancia relativa de cada variable independiente. Todas estas variables fueron introducidas mediante el método de pasos sucesivos. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 11.0, considerando significativos valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se incluyó una muestra no aleatorizada de 400 sujetos sin enfermedad clínica cardiovascular (media [intervalo] de edad, 54,3 [20-80] años; el 78% varones) que acudieron para chequeo general en un único centro. Había una elevada proporción de sujetos con dislipemia (81%), hipertensión arterial (50,7%) y obesidad (32%), con una menor prevalencia de diabetes (16%). Las características clínicas y los factores de riesgo cardiovascular de la población de estudio en general y por sexos se muestran en la tabla 1. El grupo de varones (n

TABLA 1. Características clínicas y factores de riesgo cardiovascular de la población en general y según el sexo

	Total (n = 400)	Varones (n = 311)	Mujeres (n = 89)
Edad (años)	54,3 ± 11,4	53,6 ± 11,1 ^a	56,5 ± 12,4
Tabaquismo, sí/ex fumador/no	118/195/87	106 ^b /75 ^b /130	12/12/1965
Obesidad, n (%)	128 (32)	106 (34,1)	22 (24,7)
IMC	27,9 ± 4,3	28,6 ± 4 ^b	26 ± 4,5
Hipertensión, n (%)	203 (50,7)	158 (50,8)	45 (50,6)
PAS (mmHg)	130,2 ± 21	130,1 ± 20,9	130,9 ± 21,7
PAD (mmHg)	82 ± 9,8	82,8 ± 9,7 ^a	79,2 ± 9,9
Dislipemia, n (%)	324 (81)	257 (82,6)	67 (75,2)
Colesterol total (mg/dl)	222 ± 41,5	221,6 ± 40,5	225,2 ± 44,5
cLDL (mg/dl)	149,5 ± 38,1	150,6 ± 37,6	146,8 ± 40,1
cHDL (mg/dl)	49,5 ± 12,7	46,7 ± 10,8 ^b	59,2 ± 13,8
Triglicéridos (mg/dl)	102,7 ± 67,6	128,3 ± 71,8 ^b	96,9 ± 41,7
Diabetes mellitus, n (%)	64 (16)	54 (17,3)	10 (11,2)
Glucosa (mg/dl)	106,8 ± 33,9	109,5 ± 6,8 ^b	96,7 ± 17,1
EIMc (mm)	0,71 ± 0,18	0,73 ± 0,19 ^b	0,66 ± 0,14
Índice REGICOR (%)	6 ± 4,5	6,5 ± 4,7 ^b	4,2 ± 2,7
Índice PROCAM (%)	9,5 ± 12,5	11,2 ± 13,4	3,6 ± 6

EIMc: espesor íntima media carotídeo; IMC: índice de masa corporal; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica.

^ap < 0,05 frente a las mujeres.^bp < 0,01 frente a las mujeres.

Los valores expresan media ± desviación estándar o n (%).

TABLA 2. Diferencias en factores de riesgo cardiovascular, marcadores inflamatorios y proteolíticos entre fumadores activos y nunca fumadores

	Fumadores (n = 118)	No fumadores (n = 195)	p
Edad (años)	50,8 ± 11,3	55,7 ± 11,1	< 0,001
Varones/mujeres	107/11	130/65	< 0,001
Obesidad, %	36,4	27,2	NS
Hipertensión, %	44,1	46,6	NS
Dislipemia, %	86,4	82,5	NS
Diabetes mellitus, %	16,1	12,8	NS
Fibrinógeno (mg/dl)	281,6 ± 98,8	268,6 ± 89,4	NS
PCR-us (mg/l)*	4,1 ± 5,4	3,7 ± 7,9	NS
FvW (%)	134,5 ± 79,9	141,4 ± 79,1	NS
IL-6 (pg/ml)*	0,5 ± 0,3	0,5 ± 0,4	NS
EIMc (mm)	0,74 ± 0,22	0,7 ± 0,15	NS
MMP-1 (ng/ml)	4,4 ± 0,8	4,1 ± 0,6	0,039
MMP-9 (ng/ml)	17,5 ± 18,5	17,2 ± 18,3	NS
MMP-10 (pg/ml)	800,1 ± 387,9	629,6 ± 291,9	< 0,001
TIMP-1 (ng/ml)	393,7 ± 60,6	388,1 ± 48,2	NS

FvW: factor de von Willebrand; MMP: metaloproteinasas; NS: no significativo; PCR-us: proteína C reactiva ultrasensible; TIMP-1: inhibidor tisular de MMP-1.

*Variable transformada logarítmicamente.

Los valores expresan media ± desviación estándar.

= 311) era de menor edad ($p < 0,05$), con mayor predominio de fumadores y ex fumadores ($p < 0,01$). Este grupo presentaba una concentración de cHDL significativamente menor, junto con unos valores de triglicéridos y glucosa más elevados ($p < 0,01$), que las mujeres ($n = 89$). El grupo de varones presentaba, asimismo, unos valores significativamente mayores del índice de riesgo vascular total REGICOR ($p < 0,01$), así como del EIMc ($p < 0,01$).

La tabla 2 muestra las diferencias en factores de riesgo cardiovascular, marcadores inflamatorios y proteolíticos entre el grupo de fumadores activos ($n = 118$) y nunca fumadores ($n = 195$). El grupo de fumadores era más joven y predominaban los varones ($p < 0,001$). Mientras que no se observaron diferencias entre grupos en la prevalencia de otros factores de riesgo cardiovascular ni en la concentración de fibrinógeno, PCR-us, FvW, IL-6, MMP-9 y TIMP-1, los valores de

TABLA 3. Correlación de MMP-1 y MMP-10 con factores de riesgo y parámetros inflamatorios y proteolíticos (r de Pearson) en fumadores y no fumadores (n = 313)

	MMP-1	MMP-10
Edad	-0,07	0,11 ^a
IMC	0,13	-0,15 ^a
PAS	-0,03	0,04
PAD	-0,02	-0,07
Colesterol total	0,17 ^a	0,002
cLDL	0,20 ^b	0,004
cHDL	-0,12	-0,10 ^a
Triglicéridos	0,06	-0,04
Glucosa	0,02	0,06
EIMc	-0,01	0,12 ^a
Índice PROCAM	0,07	0,22 ^b
Índice REGICOR	0,04	0,20 ^b
Fibrinógeno	-0,1	0,22 ^b
PCR-us	0,002	0,08
FvW	0,12	-0,001
IL-6	-0,03	0,05
MMP-1	—	0,01
MMP-9	0,005	0,03
MMP-10	0,01	—
TIMP-1	0,13 ^a	0,27 ^b

FvW: factor de von Willebrand; IMC: índice de masa corporal; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; PCR-us: proteína C reactiva ultrasensible; TIMP-1: inhibidor tisular de MMP-1.

^ap < 0,05.

^bp < 0,01.

MMP-1 ($p < 0,05$) y MMP-10 estaban significativamente más elevados ($p < 0,001$) en el grupo de fumadores, sin diferencias significativas en el EIMc. Se procedió posteriormente a un análisis de las correlaciones observadas para ambas MMP en la población analizada (tabla 3). La MMP-1 se correlacionó con el cLDL ($p < 0,01$), el colesterol total y el TIMP-1 ($p < 0,05$), mientras que la MMP-10 mostró correlación significativa con la edad ($p < 0,05$), el cHDL ($p < 0,05$), el fibrinógeno ($p < 0,01$), el EIMc ($p < 0,05$) y el TIMP-1 ($p < 0,01$), así como con los índices de riesgo vascular total PROCAM y REGICOR ($p < 0,01$). Tras ajustar para edad, sexo y los factores de riesgo cardiovascular con significación en el análisis univariable, únicamente se mantuvo la significación estadística para la MMP-10, que estaba más elevada ($p < 0,001$) en el grupo de fumadores (fig. 1). Finalmente, se realizó un análisis de regresión múltiple en el que se definieron los coeficientes de regresión estandarizados, para valorar la importancia relativa de cada variable asociada de forma independiente con la concentración de MMP-10. Como muestra la tabla 4, las variables que contribuyeron de manera significativa a la variabilidad de las concentraciones de esta MMP fueron la edad (15%; $p < 0,01$) y, de manera aún más importante, el tabaquismo (28%; $p < 0,001$).

TABLA 4. Análisis de regresión múltiple (MMP-10 como variable dependiente)

Parámetro	Coefficiente β estandarizado	p
Edad	0,15	0,013
Sexo varón	-0,04	NS
Tabaquismo	0,28	< 0,001
Obesidad	-0,11	0,057
Diabetes mellitus	0,08	NS
Hipertensión arterial	0,01	NS
Hipercolesterolemia	0,02	NS

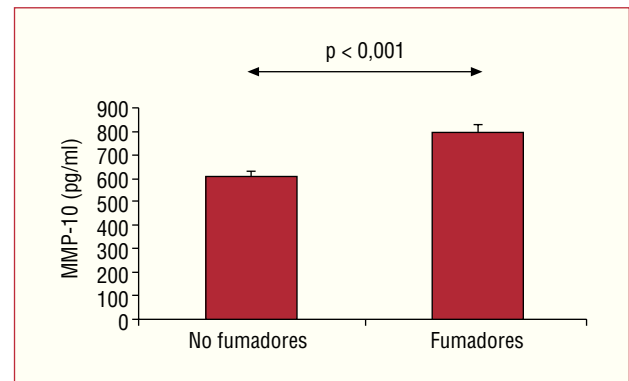


Fig. 1. Concentraciones de MMP-10 en sujetos fumadores y no fumadores sin enfermedad cardiovascular. Se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA) ajustando por los factores de riesgo cardiovascular significativos en el análisis univariable.

DISCUSIÓN

En una serie de sujetos asintomáticos desde el punto de vista cardiovascular, la concentración de MMP-10 (estromalisina 2) circulante estaba significativamente elevada en los fumadores respecto a los no fumadores. La asociación entre MMP-10 y tabaquismo fue independiente de otros factores de riesgo tradicionales. De hecho, el tabaquismo fue la variable que contribuyó en mayor medida a explicar la variabilidad en la concentración de MMP-10. Estos resultados indican que la elevación de la MMP-10 puede constituir un factor adicional de riesgo cardiovascular asociado al tabaquismo en sujetos sin enfermedad cardiovascular sintomática, con el interés añadido de que esta molécula es un mediador en los procesos de degradación de la MEC, erosión y rotura relacionados con los síndromes aterotrombóticos^{8,9}. También se observó correlación entre MMP-10 y el riesgo cardiovascular total, estimado mediante los índices PROCAM y REGICOR, pero fue de escasa magnitud, por lo que su significado clínico es incierto. Finalmente, la MMP-10 correlacionó con el EIMc, un marcador de aterosclerosis subclínica, como se ha descrito previamente¹⁵. En el análisis mul-

tivariable posterior, la edad (15%) y el tabaquismo (28%) fueron las variables que contribuyeron en mayor medida al incremento de la concentración de MMP-10 circulante.

Hemos encontrado, asimismo, una relación entre MMP-1 (colagenasa 1) y el tabaquismo, lo que confirma los datos de estudios previos¹⁸⁻²¹, pero no respecto a otras MMP o el TIMP-1. En conjunto, los resultados de este estudio indican que una alteración del balance entre síntesis y degradación de la MEC, por incremento de diversas MMP, puede tener un papel importante en la génesis de las alteraciones cardiovasculares asociadas con el consumo de tabaco en sujetos asintomáticos⁸.

El tabaquismo incrementa de manera independiente el riesgo de enfermedad aterosclerótica coronaria, cerebrovascular y periférica, así como la prevalencia de aneurismas aórticos^{22,23}. La coincidencia de factores tradicionales, como el colesterol o la hipertensión arterial, no explica adecuadamente el incremento del riesgo cardiovascular asociado al tabaquismo^{24,25}. Sin embargo, se ha observado sinergia entre diversas MMP y tabaquismo en relación con la enfermedad cardiovascular^{26,27}. Una excesiva respuesta inflamatoria y oxidativa, mediada por citocinas y factores de transcripción, tipo NF- κ B o AP-1, parece ser importante en la sobreexpresión celular de MMP en el contexto del tabaquismo^{8,28-32}. Tampoco se puede descartar que la mayor concentración de MMP-10 sea de origen pulmonar, teniendo en cuenta la estrecha relación entre tabaquismo y EPOC¹³.

En nuestro estudio, la MMP-10 emerge como una proteínasa particularmente relacionada con el consumo de tabaco. Se trata de una peptidasa liberada por el endotelio en respuesta a estímulos inflamatorios, que puede tener importante participación en el remodelado vascular y la aparición de complicaciones aterotrombóticas^{9,33}. Estudios recientes de nuestro grupo han demostrado un incremento de las concentraciones circulantes en sujetos asintomáticos, con factores de riesgo cardiovascular y aterosclerosis subclínica¹⁵, así como en pacientes con enfermedad aterosclerótica establecida¹⁴. Es interesante que la MMP-10 también se ha asociado con aneurismas aórticos³⁴. Los resultados de este estudio enfatizan la relevancia de esta MMP en el subgrupo de fumadores, mientras que otros marcadores inflamatorios y de daño endotelial como el fibrinógeno, la IL-6 y el FvW, asociados con aterosclerosis subclínica en sujetos asintomáticos^{35,36}, serían de menor utilidad para la valoración del riesgo cardiovascular relacionado con el tabaquismo. Si bien se observó una correlación de MMP-10 con la edad en la población del estudio, es interesante señalar el aumento observado en el grupo de fumadores, que era precisamente el de menor edad. Estos resultados se confirmaron en el análisis multivariable tras ajustar para esta variable.

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar la inducción de MMP por el tabaquismo in vitro e in

vivo^{6,37,38}. La exposición in vitro de células endoteliales al humo del tabaco induce la expresión de MMP-1, MMP-8 y MMP-9^{19,32}; de forma similar, el humo del tabaco estimula la producción de MMP-1 por fibroblastos humanos²¹. Asimismo, un incremento del cadmio inhalado con el humo del tabaco podría inducir proteinólisis, como se ha demostrado en la EPOC¹³, pero también podría participar en la enfermedad cardiovascular, como se ha observado por el aumento tanto en la aorta de sujetos fumadores³⁹ como en la circulación de pacientes con enfermedad arterial periférica⁴⁰.

A diferencia de otros estudios clínicos en sujetos con enfermedad cardiovascular^{26,27,29,38}, no hemos encontrado diferencias entre fumadores y no fumadores en otras MMP, como MMP-9, ni en TIMP-1, hecho que puede estar en relación con el tipo de muestra analizada y la exclusión de pacientes con aterosclerosis clínica.

El estudio tiene varias limitaciones. El carácter transversal no permite establecer asociaciones etiológicas entre los valores de marcadores proteolíticos y el riesgo cardiovascular, por lo que son necesarios estudios prospectivos. Dado el escaso número de mujeres incluidas y que no se aleatorizó la muestra, los resultados no se pueden extrapolar a la población general. Finalmente, los valores de algunas MMP experimentan variaciones circadianas que pueden no detectarse en una muestra puntual, si bien todas las extracciones se realizaron en la misma franja horaria⁴¹.

CONCLUSIONES

El grupo de sujetos fumadores asintomáticos presentó un aumento de MMP-10 que fue independiente de otros factores tradicionales de riesgo aterosclerótico. La estrecha relación entre consumo de tabaco y MMP-10 y entre ésta y la regulación de la MEC podría indicar un papel clave de esta MMP en el proceso aterosclerótico asociado al tabaquismo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ezzati M, Lopez AD. Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000. *Lancet*. 2003;362:847-52.
2. Medrano MJ, Pastor-Barriuso R, Boix R, Del Barrio JL, Damian J, Alvarez R, et al. Riesgo coronario atribuible a los factores de riesgo cardiovascular en población española. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60:1250-6.
3. Willigendael EM, Teijink JA, Bartelink ML, Kuiken BW, Boiten J, Moll FL, et al. Influence of smoking on incidence and prevalence of peripheral arterial disease. *J Vasc Surg*. 2004;40:1158-65.
4. Law MR, Morris JK, Wald NJ. Environmental tobacco smoke exposure and ischaemic heart disease: an evaluation of the evidence. *BMJ*. 1997;315:973-80.
5. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:1731-7.

6. MacCallum PK. Markers of hemostasis and systemic inflammation in heart disease and atherosclerosis in smokers. *Proc Am Thorac Soc*. 2005;2:34-43.
7. Wang Z, Nicholls SJ, Rodriguez ER, Kumm O, Horkko S, Barnard J, et al. Protein carbamylation links inflammation, smoking, uremia and atherogenesis. *Nat Med*. 2007;13:1176-84.
8. Perlstein TS, Lee RT. Smoking, metalloproteinases, and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:250-6.
9. Rodriguez JA, Orbe J, Paramo JA. Metaloproteasas, remodelado vascular y síndromes aterotrombóticos. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60:959-67.
10. Tuomainen AM, Nyyssonen K, Laukkanen JA, Tervahartiala T, Tuomainen TP, Salonen JT, et al. Serum matrix metalloproteinase-8 concentrations are associated with cardiovascular outcome in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:2722-8.
11. Pinon P, Kaski JC. Inflamación, aterosclerosis y riesgo cardiovascular: PAPP-A, Lp-PLA2 y cistatina C. ¿Nuevas aportaciones o información redundante? *Rev Esp Cardiol*. 2006;59:247-58.
12. Shapiro SD, Ingenito EP. The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease: advances in the past 100 years. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2005;32:367-72.
13. Srivastava PK, Dastidar SG, Ray A. Chronic obstructive pulmonary disease: role of matrix metalloproteinases and future challenges of drug therapy. *Expert Opin Investig Drugs*. 2007;16:1069-78.
14. Montero I, Orbe J, Varo N, Beloqui O, Monreal JJ, Rodriguez JA, et al. C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1 and -10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:1369-78.
15. Orbe J, Montero I, Rodriguez JA, Beloqui O, Roncal C, Paramo JA. Independent association of matrix metalloproteinase-10, cardiovascular risk factors and subclinical atherosclerosis. *J Thromb Haemost*. 2007;5:91-7.
16. Ramos R, Solanas P, Cordon F, Rohlf I, Elosua R, Sala J, et al. Comparación de la función Framingham original y la calibrada del REGICOR en la predicción del riesgo coronario poblacional. *Med Clin (Barc)*. 2003;121:521-6.
17. Assmann G, Cullen P, Schulte H. Simple scoring scheme for calculating the risk of acute coronary events based on the 10-year follow-up of the prospective cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Circulation*. 2002;105:310-5.
18. Lahmann C, Bergemann J, Harrison G, Young AR. Matrix metalloproteinase-1 and skin ageing in smokers. *Lancet*. 2001;357:935-6.
19. Nordskog BK, Blixt AD, Morgan WT, Fields WR, Hellmann GM. Matrix-degrading and pro-inflammatory changes in human vascular endothelial cells exposed to cigarette smoke condensate. *Cardiovasc Toxicol*. 2003;3:101-17.
20. Nordskog BK, Blixt AD, Zieske AW, Hellmann GM. MMP-1 polymorphic expression in aortic endothelial cells: possible role in lesion development in smokers and nonsmokers. *Cardiovasc Toxicol*. 2004;4:75-83.
21. Kim H, Liu X, Kohyama T, Kobayashi T, Conner H, Abe S, et al. Cigarette smoke stimulates MMP-1 production by human lung fibroblasts through the ERK1/2 pathway. *COPD*. 2004;1:13-23.
22. Himbert D, Klutman M, Steg G, White K, Gulba DC. Cigarette smoking and acute coronary syndromes: a multinational observational study. *Int J Cardiol*. 2005;100:109-17.
23. Wong DR, Willett WC, Rimm EB. Smoking, hypertension, alcohol consumption, and risk of abdominal aortic aneurysm in men. *Am J Epidemiol*. 2007;165:838-45.
24. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, Sapp SK, Ohman EM, Brener SJ, et al. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA*. 2003;290:898-904.
25. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet*. 2004;364:937-52.
26. Liu PY, Chen JH, Li YH, Wu HL, Shi GY. Synergistic effect of stromelysin-1 (matrix metallo-proteinase-3) promoter 5A/6A polymorphism with smoking on the onset of young acute myocardial infarction. *Thromb Haemost*. 2003;90:132-9.
27. Liu PY, Li YH, Chan SH, Lin LJ, Wu HL, Shi GY, et al. Genotype-phenotype association of matrix metalloproteinase-3 polymorphism and its synergistic effect with smoking on the occurrence of acute coronary syndrome. *Am J Cardiol*. 2006;98:1012-7.
28. Mochida-Nishimura K, Surewicz K, Cross JV, Hejal R, Templeton D, Rich EA, et al. Differential activation of MAP kinase signaling pathways and nuclear factor-kappaB in bronchoalveolar cells of smokers and nonsmokers. *Mol Med*. 2001;7:177-85.
29. Kangavari S, Matetzky S, Shah PK, Yano J, Chyu KY, Fishbein MC, et al. Smoking increases inflammation and metalloproteinase expression in human carotid atherosclerotic plaques. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2004;9:291-8.
30. Harding SA, Sarma J, Josephs DH, Cruden NL, Din JN, Twomey PJ, et al. Upregulation of the CD40/CD40 ligand dyad and platelet-monocyte aggregation in cigarette smokers. *Circulation*. 2004;109:1926-9.
31. Walters MJ, Paul-Clark MJ, McMaster SK, Ito K, Adcock IM, Mitchell JA. Cigarette smoke activates human monocytes by an oxidant-AP-1 signaling pathway: implications for steroid resistance. *Mol Pharmacol*. 2005;68:1343-53.
32. Wright JL, Tai H, Wang R, Wang X, Churg A. Cigarette smoke upregulates pulmonary vascular matrix metalloproteinases via TNF-alpha signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;292:L125-33.
33. Rodriguez JA, Orbe J, Martinez de Lizarrondo S, Calvayrac O, Rodriguez C, Martinez-Gonzalez J, et al. Metalloproteinases and atherothrombosis: MMP-10 mediates vascular remodeling promoted by inflammatory stimuli. *Front Biosci*. 2008;13:2916-21.
34. Ogata T, Shibamura H, Tromp G, Sinha M, Goddard KA, Sakalihasan N, et al. Genetic analysis of polymorphisms in biologically relevant candidate genes in patients with abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg*. 2005;41:1036-42.
35. Paramo JA, Beloqui O, Roncal C, Benito A, Orbe J. Validation of plasma fibrinogen as a marker of carotid atherosclerosis in subjects free of clinical cardiovascular disease. *Haematologica*. 2004;89:1226-31.
36. Paramo JA, Beloqui O, Colina I, Diez J, Orbe J. Independent association of von Willebrand factor with surrogate markers of atherosclerosis in middle-aged asymptomatic subjects. *J Thromb Haemost*. 2005;3:662-4.
37. Morimoto Y, Tsuda T, Nakamura H, Hori H, Yamato H, Nagata N, et al. Expression of matrix metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases, and extracellular matrix mRNA following exposure to mineral fibers and cigarette smoke in vivo. *Environ Health Perspect*. 1997;105 Suppl 5:1247-51.
38. Nakamura T, Ebihara I, Shimada N, Koide H. Effect of cigarette smoking on plasma metalloproteinase-9 concentration. *Clin Chim Acta*. 1998;276:173-7.
39. Abu-Hayyeh S, Sian M, Jones KG, Manuel A, Powell JT. Cadmium accumulation in aortas of smokers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:863-7.
40. Navas-Acien A, Selvin E, Sharrett AR, Calderon-Aranda E, Silbergeld E, Guallar E. Lead, cadmium, smoking, and increased risk of peripheral arterial disease. *Circulation*. 2004;109:3196-201.
41. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez MJ, Reiter RJ. Relation of nocturnal melatonin levels to serum matrix metalloproteinase-9 concentrations in patients with myocardial infarction. *Thromb Res*. 2007;120:361-6.