

Metaloproteasa-10 (estromelisin-2): un nuevo marcador de aterosclerosis subclínica

Josune Orbe^a, José A. Rodríguez^a, Oscar Beloqui^b, Miriam Belzunce^a, Carmen Roncal^a y José A. Páramo^a

^aLaboratorio de Aterosclerosis. Área de Ciencias Cardiovasculares. Centro de Investigación Médica Aplicada. Pamplona. España.

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

Objetivo. Las metaloproteasas (MMP) son una familia de endopeptidasas que degradan la matriz extracelular y desempeñan un papel clave en la aterogénesis. La MMP-10 (estromelisin-2) se asocia con inflamación en sujetos asintomáticos con factores de riesgo cardiovascular, pero se desconoce si se puede relacionar con la gravedad de la aterosclerosis. Este estudio analiza la relación entre MMP-10, factores de riesgo ateroesclerótico y aterosclerosis subclínica.

Métodos y resultados. Se midieron los valores circulantes de MMP-1, 9 y 10, y marcadores inflamatorios en 400 sujetos (edad media, 54,3 años; 77,7% varones) con factores de riesgo, pero sin clínica cardiovascular. La aterosclerosis subclínica se evaluó mediante ultrasonidos en todos los sujetos y se midió tanto el espesor íntima-media (EIM) de la carótida, como la presencia de placas ateroescleróticas. Los valores de MMP-10 correlacionaron positivamente con el fibrinógeno, hs-proteína C reactiva (PCR) y EIM de la carótida. La asociación de MMP-10 y EIM se mantuvo significativa en el análisis de regresión múltiple ($p < 0,02$) cuando se ajustó por los factores de

riesgo ateroesclerótico tradicionales y los marcadores inflamatorios. Los sujetos en el tercil superior de MMP-10 presentaron un incremento del EIM carotídeo (*odds ratio* ajustada 6,3 [1,3-31,4]; $p = 0,024$). Además, los valores de MMP-10 fueron mayores en pacientes con placas en la carótida ($n = 78$) que en los que no tenían placas, tras ajustar para edad y sexo ($p < 0,01$).

Conclusión. Valores séricos elevados de MMP-10 se asociaron con un incremento en los marcadores inflamatorios, el EIM carotídeo y con la presencia de placas ateroescleróticas en sujetos asintomáticos. La MMP-10 puede ser útil para identificar aterosclerosis subclínica en sujetos sin enfermedad cardiovascular.

Palabras clave:

MMP-10. Aterosclerosis. Espesor íntima-media carotídeo. Inflamación.

METALLOPROTEASE-10 (STROMELYSINE-2): A NEW MARKER OF SUBCLINICAL ATHEROSCLEROSIS

Objective. MMPs are a family of endopeptidase which play a key role in atherogenesis through ECM degradation. MMP-10 (stromelysin-2) has been associated with inflammation in asymptomatic subjects with cardiovascular risk factors. Whether MMP-10 is associated with the severity of atherosclerosis remains to be determined. We examined the relationship of systemic MMP-10 levels with cardiovascular risk factors and subclinical atherosclerosis.

Methods and results. MMP-1, -9, and -10 levels and markers of inflammation were measured in 400 subjects (mean age 54.3 years; 77.7% men) with cardiovascular risk factors but free of clinical cardiovascular disease. Severity of carotid

Este Proyecto ha sido financiado por "UTE proyecto CIMA" (Universidad de Navarra, Pamplona, España), el Ministerio Educación y Ciencia (SAF 2005-07042-C03-01), el Fondo de Investigación Sanitaria (FIS/PI050777) y el Departamento de Salud (19/2005) del Gobierno de Navarra. Una comunicación referente a esta línea de trabajo fue presentada en el XIX Congreso Nacional de la SEA-Santander y galardonada con una Mención Especial.

Correspondencia: J. Orbe.
Laboratorio de Aterosclerosis.
Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA).
Avda. Pío XII, 55. 31008 Pamplona. España.
Correo electrónico: josuneor@unav.es

Recibido el 24-11-2006 y aceptado el 17-1-2007.

atherosclerosis was evaluated by carotid intima-media thickness (IMT) and the presence of atherosclerotic plaques with the use of B-mode ultrasound. MMP-10 levels correlated with fibrinogen, hs-C reactive protein (CRP) and carotid IMT. The association of MMP-10 and IMT remained significant in multiple regression analysis ($P < .02$) when controlling for traditional risk factors and inflammatory markers. Subjects in the highest MMP-10 tertile had significantly higher carotid IMT (adjusted OR 6.3 [1.3-31.4]; $P = .024$). In addition, MMP-10 levels were elevated in subjects with higher carotid IMT ($P < .01$) and in patients with carotid plaques ($n = 78$, $P < .01$).

Conclusions. Higher systemic MMP-10 levels were associated with inflammation, increased carotid IMT and atherosclerotic plaques in asymptomatic subjects. Circulating MMP-10 may be useful marker for subclinical atherosclerosis in subjects free of cardiovascular disease.

Key words:

MMP-10. Atherosclerosis. Carotid intima-media thickness. Inflammation.

Introducción

Estudios clínicos y experimentales han demostrado que la degradación de la matriz extracelular (MEC) mediada por las metaloproteasas (MMP) es crítica en la rotura de la placa aterosclerótica responsable de los síndromes aterotrombóticos agudos (p. ej., infarto agudo de miocardio e ictus isquémico)¹⁻⁵ y favorece el desarrollo de aneurismas abdominales, aórticos y coronarios⁶⁻⁸. Además, datos clínicos recientes sugieren que algunas MMP están implicadas en la rigidez arterial⁹ y participan en el remodelado vascular^{10,11}.

Las MMP son una familia de al menos 24 endopeptidasas dependientes del zinc, similares en su estructura y clasificadas en base al sustrato que digieren preferentemente y a sus dominios estructurales¹²⁻¹³. Las estromelinas 1 y 2 (p. ej., MMP-3 y MMP-10) son relevantes por su capacidad de degradar varios componentes de la MEC, como el colágeno tipo IV, la laminina y los proteoglicanos^{14,15}, y por su capacidad de activar otras MMP que pueden, a su vez, degradar la MEC (MMP-1, 8 y 13)^{16,17}. Diversos estudios indican que existe una alta expresión de MMP-10 activa en distintos tipos de cánceres, que está implicada en el remodelado de la MEC asociado con el crecimiento del tumor¹⁸. Sin embargo, son pocos los trabajos que han relacionado la expresión de MMP-10 con la inestabili-

dad de la placa aterosclerótica¹⁹, y no hay ningún estudio clínico que relacione la MMP-10 con el grado de aterosclerosis.

El espesor íntima-media carotídeo (EIM) se emplea como un marcador establecido de aterosclerosis subclínica, capaz de predecir futuros episodios cardiovasculares²⁰. En algunos estudios se ha sugerido una relación entre la inflamación, medida por los valores circulantes de proteína C reactiva (PCR ultrasensible [hs-PCR]), y la aterosclerosis subclínica^{21,22}. Recientemente, nuestro grupo ha demostrado que la PCR induce directamente la expresión de la MMP-10 en células endoteliales humanas²³. Además, en una pequeña serie de sujetos sin historia de enfermedad cardiovascular encontramos que los que tenían valores altos de PCR presentaban aumento de MMP-10 circulante²³.

Teniendo en cuenta que las MMP desempeñan un papel patogénico en la aterosclerosis, en este estudio analizamos la relación entre los valores séricos de MMP-1, 9 y 10, el EIM carotídeo y la presencia de placas en las arterias carótidas, como medida directa de aterosclerosis subclínica, en sujetos asintomáticos con factores de riesgo cardiovascular.

Pacientes y métodos

Se analizó a un total de 400 sujetos aparentemente sanos (77,7% varones; edad media, 54,3 años) que acudieron para la evaluación del riesgo vascular en el Departamento de Medicina Interna de la Clínica Universitaria de Navarra. Ninguno de ellos presentaba enfermedad aterosclerótica vascular, basándose en los siguientes criterios: 1) historia de enfermedad coronaria, de ictus o de enfermedad arterial periférica, y 2) electrocardiograma (ECG) y radiografía de tórax normal. La enfermedad coronaria fue definida por: 1) historia previa de infarto de miocardio, angina, o uso de nitroglicerina, y 2) antecedentes de angioplastia coronaria o cirugía de *bypass* aorto-coronario. La enfermedad cerebrovascular fue definida como historia 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. Los criterios de exclusión fueron: alteración grave 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 pacientes con infección aguda, según criterios clínicos, también fueron excluidos.

Evaluación de los factores de riesgo cardiovascular

Además del registro de los síntomas de enfermedad isquémica cardíaca, vascular periférica e ictus, se obtuvo información sobre los factores de riesgo cardiovascular: diabetes mellitus, hipertensión arterial, dislipemia, obesidad y tabaquismo. Los pacientes se consideraban hipertensos con presión arterial sistólica > 139 mmHg y/o presión diastólica > 89 mmHg y/o empleo de antihipertensivos. La dislipemia se diagnosticó por valores de colesterol total ≥ 200 mg/dl, colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) \geq

130 mg/dl, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (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 kg/m². La diabetes mellitus se definió con los valores de glucosa $>$ 126 mg/dl, o el empleo de antidiabéticos. El tabaquismo se evaluó basándose en el consumo de cigarrillos y se definió como fumador \geq 10 cigarrillos por día durante un año.

Se obtuvo el consentimiento informado de todos los pacientes, y el estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la institución. La investigación se realizó conforme a la Declaración de Helsinki.

El 33,5% de la población presentó 0 o 1 factor de riesgo, frente a más del 50% que tenían 2 o más factores. Se calculó el índice de riesgo vascular global PROCAM en todos los varones²⁴. El EIM se midió en todos los pacientes mediante ultrasonografía-Doppler de las arterias carótidas comunes (ACC), como una medida directa de aterosclerosis subclínica como ha descrito previamente nuestro grupo²⁵⁻²⁷.

La ultrasonografía se realizó con un transductor lineal de 5-12 MHz (ATL 5000 HDI). El EIM carotídeo se midió en áreas sin placa a 1 cm del bulbo carotídeo en cada ACC y se determinó el promedio de cada arteria carótida común, por 2 ecocardiografistas desconocedores de la información clínica. La reproducibilidad de las medidas inter e intraoperadores se revisó en 20 individuos que volvieron 2 semanas más tarde para un segundo examen. Los coeficientes de variación inter e intraanálisis fueron del 5 y el 10%, respectivamente.

Las placas de ateroma se definieron como estructuras ecogénicas en el lumen del vaso con un área un 50% mayor que el grosor de la íntima más la media de zonas adyacentes²⁸.

Análisis de laboratorio

Marcadores inflamatorios. Las muestras de plasma y suero se extrajeron en ayunas por venopunción, se centrifugaron (20 min, 1.200 xg) y se guardaron a -80 °C hasta su análisis. La actividad fibrinógeno del plasma se midió por el método de Clauss y la hs-PCR por inmunoensayo (Immulyte, Diagnostic Product Corporation). Los valores de factor von Willebrand (FvW, Asserachrom, Diagnostica Stago) e interleucina-6 (IL-6, Quantikine, R&D systems) se determinaron mediante ELISA siguiendo las instrucciones del fabricante.

Marcadores proteolíticos. Se empleó plasma citratado para determinar MMP-1 y MMP-9 (Biotrak, Amersham Biosciences) por ELISA específicos. Los valores de MMP-10 se midieron mediante ELISA en el suero de los pacientes siguiendo las instrucciones del fabricante (Quantikine, R&D Systems). Los ensayos MMP reconocen las formas cimógeno y activas. Los coeficientes de variación inter e intraensayo para los ELISA fueron $<$ 6%.

Perfil lipídico. 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.

Análisis estadístico

Las asociaciones entre los valores de MMP-10 y los factores de riesgo aterosclerótico se realizaron mediante test de correlación de Pearson, para variables continuas, y la prueba de la t de Student para muestras no pareadas, para las variables categóricas. También se analizaron las asociaciones

entre los valores de marcadores inflamatorios y el EIM carotídeo por el test de Pearson. Posteriormente se empleó el análisis de regresión lineal múltiple para examinar la asociación entre los valores de MMP-10 y el EIM carotídeo tras ajustar para edad, sexo, factores de riesgo aterosclerótico tradicionales (obesidad, hipertensión, diabetes, tabaquismo y dislipemia), marcadores inflamatorios y medicación administrada. El EIM carotídeo se comparó por los terciles de MMP-10 mediante ANOVA seguido por el test de Bonferroni. La *odds ratio* (OR) para la asociación de EIM y terciles de MMP-10 se estimó mediante regresión logística. Se muestran las OR e intervalos de confianza (IC) del 95% que se obtuvieron tras el ajuste para covariables relevantes. Un modelo lineal se aplicó también a los valores de MMP-10 y la presencia de placas, con la edad y el sexo como covariables. El análisis se realizó en SPSS 11.0 con la opción de diagnóstico colinealidad. Todas las asociaciones se consideraron significativas para $p <$ 0,05.

Resultados

Se incluyó en el estudio a 400 sujetos sin enfermedad clínica cardiovascular (edad media, 54,3 años; 77,7% varones) tras aplicar los criterios de exclusión. Las características de los pacientes se muestran en la tabla 1, en la que se observa que la frecuencia de los factores de riesgo tradicionales fue variable: el 81% era dislipémico (el 34,2% recibían hipolipemiantes), el 50,7% era hipertenso (el 42,8% con terapia antihipertensiva), el 32% era obeso, el 29,5% fumador y el 16% diabético (el 62,5% con antidiabéticos).

MMP-10 y factores de riesgo cardiovascular

Los valores medios circulantes de MMP-10 en la población eran de 664,7 pg/ml, y mostraban un amplio rango de distribución (112,6-1.941,7 pg/ml). Las correlaciones entre los valores de MMP-10 y los factores de riesgo aterosclerótico se muestran en la tabla 2. La MMP-10 se asoció con la edad ($p <$ 0,001), y estaba más elevada en diabéticos ($p <$ 0,05) y fumadores ($p <$ 0,001) (tabla 3).

Los valores de MMP-10 aumentaron a medida que se incrementaba el número de factores de riesgo (fig. 1), y hubo una correlación positiva entre la MMP-10 y el índice PROCAM en varones ($r = 0,21$; $p <$ 0,001; tabla 2). No se observó ninguna asociación con el sexo, el IMC, la hipertensión arterial, el colesterol total y el cLDL, pero existió una correlación negativa entre MMP-10 y HDL ($p <$ 0,01). Además, la MMP-10 correlacionó positivamente con fibrinógeno ($r = 0,24$; $p <$ 0,001) y hs-PCR ($r = 0,14$; $p <$ 0,01), pero no con interleucina (IL)-6 y otras MMP, como MMP-1 y 9. Cabe resaltar, además, que los valores de MMP-10 en sujetos con estatinas, antihipertensivos y antidiabéticos fueron similares a los de los pacientes sin tratamiento (tabla 3).

Tabla 1. Características de los pacientes y factores de riesgo cardiovascular

	n = 400
Edad, años	54,3 ± 11,4
Varones, n (%)	311 (77,7)
Obesidad, n (%)	128 (32,0)
IMC, kg/m ²	27,9 ± 4,3
Hipertensión, n (%)	203 (50,7)
PAS, mmHg	130,2 ± 21,0
PAD, mmHg	82,0 ± 9,8
Antihipertensivos, n (%)	87 (42,8)
Diabetes mellitus, n (%)	64 (16,0)
Glucosa, mg/dl	106,8 ± 33,9
Antidiabéticos, n (%)	40 (62,5)
Dislipemia, n (%)	324 (81,0)
Colesterol total, mg/dl	222,0 ± 41,5
Triglicéridos ^a , mg/dl	102,0 (70,7)
cHDL, mg/dl	49,5 ± 12,7
cLDL, mg/dl	149,5 ± 38,1
Hipolipemiente, n (%)	111 (34,2)
Tabaquismo, n (%)	118 (29,5)
Marcadores inflamatorios	
Fibrinógeno, mg/dl	278,6 ± 92,4
Factor von Willebrand ^a , %	112,5 (86)
hs-PCR ^a , mg/l	2,2 (2,9)
IL-6 ^a , pg/ml	1,7 (2,5)
Marcadores proteolíticos	
MMP-10, pg/ml	664,7 ± 310,7
MMP-1, ng/ml	4,2 ± 0,7
MMP-9, ng/ml	18,0 ± 19,6
EIM carotídeo, mm	0,71 ± 0,18
Puntuación PROCAM, %	1,1 ± 1,4

Media ± desviación estándar.

Media e intervalo de confianza del 95% para los valores de referencia.

^aVariables dispersas expresadas como mediana (rango intercuartílico).

cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; EIM: espesor íntima-media; hs-PCR: proteína C reactiva ultrasensible; IL-6: interleucina-6; IMC: índice de masa corporal; MMP: metaloproteasa; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica.

MMP-10 y EIM carotídeo

Para conocer la asociación entre la MMP-10 y los factores de riesgo aterosclerótico, se realizó un análisis univariante (tablas 2 y 3), que demostró

Tabla 2. Correlación entre los valores séricos de MMP-10 y el espesor íntima-media (EIM) carotídeo con marcadores inflamatorios y ateroscleróticos

	MMP-10	EIM carotídeo
Edad, años	0,17 ^c	0,41 ^c
IMC, kg/m ²	0,1	0,12 ^a
PAS, mmHg	0,06	0,33 ^c
PAD, mmHg	-0,05	0,20 ^b
Glucosa, mg/dl	0,06	0,21 ^c
Colesterol, mg/dl	0,01	0,08
Triglicéridos ^d , mg/dl	0,03	0,16 ^b
cHDL, mg/dl	-0,14 ^b	-0,09
cLDL, mg/dl	0,01	0,08
Fibrinógeno, mg/dl	0,24 ^c	0,02
Factor von Willebrand, %	0,02	0,20 ^a
hs-PCR ^d , mg/l	0,14 ^b	0,03
IL-6 ^d , pg/ml	0,09	0,13
MMP-1, ng/ml	0,03	0,08
MMP-9, ng/ml	0,01	0,08
MMP-10, pg/ml	-	0,17 ^b
PROCAM (varones), %	0,21 ^c	0,39 ^c

^ap < 0,05.

^bp < 0,01.

^cp < 0,001.

^dVariables dispersas transformadas logarítmicamente.

cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad; hs-PCR: proteína C reactiva ultrasensible; IL-6: interleucina-6; IMC: índice de masa corporal; MMP: metaloproteasas; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica.

una correlación positiva entre los valores de MMP-10 y el EIM carotídeo en la población total (r = 0,17; p < 0,01), no observada para MMP-1 y 9. Como esperábamos, el EIM carotídeo también correlacionó con algunos factores de riesgo aterosclerótico tradicionales y el FvW (r = 0,2; p < 0,05) (tabla 2). En el análisis de regresión múltiple (tabla 4), la asociación entre MMP-10 y el EIM permaneció significativa (p = 0,015) tras el ajuste para edad y sexo, otros factores de riesgo aterosclerótico y marcadores inflamatorios (modelo 1), y tras ajuste ulterior por tratamientos (p = 0,019, modelo 2).

Tabla 3. Diferencias en los valores de MMP-10 y en el espesor íntima-media (EIM) carotídeo en relación a factores de riesgo aterosclerótico

	MMP-10	EIM carotídeo
Sexo, V/M	684,9 ± 337,9/634,4 ± 282,5	0,79 ± 0,20/0,70 ± 0,15 ^b
Hipertensión, S/N	674,0 ± 318,6/649,4 ± 308,2	0,82 ± 0,22/0,71 ± 0,19
Antihipertensivos, S/N	648,6 ± 276,1/708,2 ± 332,2	0,76 ± 0,20/0,76 ± 0,17
Diabetes mellitus, S/N	738,1 ± 341,0/655,8 ± 284,9 ^a	0,88 ± 0,24/0,75 ± 0,20 ^c
Antidiabéticos, S/N	755,3 ± 341,3/709,6 ± 346,3	0,79 ± 0,22/0,70 ± 0,17
Dislipemia, S/N	673,6 ± 308,6/655,8 ± 319,9	0,78 ± 0,22/0,68 ± 0,16 ^b
Hipolipemiantes, S/N	732,7 ± 344,7/664,2 ± 282,0	0,79 ± 0,22/0,70 ± 0,17 ^b
Tabaquismo, S/N	762,3 ± 352,2/624,7 ± 288,0 ^c	0,81 ± 0,27/0,75 ± 0,18

Media ± desviación estándar.

^ap < 0,05; ^bp < 0,01; ^cp < 0,001.

M: mujer; MMP: metaloproteasas; N: no; S: sí; V: varón.

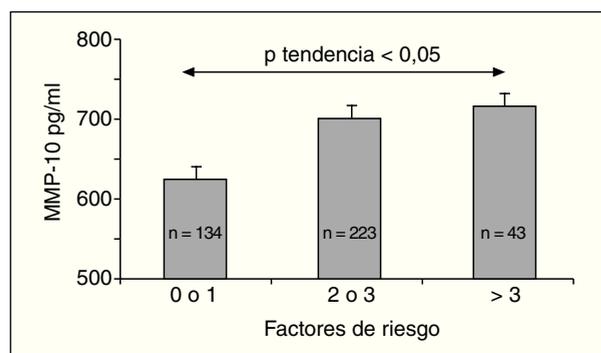


Figura 1. Valores de MMP-10 en la población total (media ± error estándar a la media) según el número de factores de riesgo cardiovascular (tabaquismo, obesidad, hipertensión arterial, dislipemia y diabetes mellitus). MMP: metaloproteasas.

Tabla 4. Análisis multivariante para la asociación entre el espesor íntima-media (EIM) carotídeo y la MMP-10 y otros factores de riesgo cardiovascular

Variables independientes	Modelo 1		Modelo 2	
	Coefficiente β	p	Coefficiente β	p
MMP-10, pg/ml	0,14	0,015	0,13	0,019
Edad, años	0,31	<0,001	0,30	<0,001
Sexo, V/M	-0,14	0,026	-0,13	0,035
IMC, kg/m ²	0,02	0,285	0,05	0,465
Hipertensión, S/N	0,17	0,005	0,16	0,022
Glucosa, mg/dl	0,12	0,032	0,07	0,321
Triglicéridos ^a , mg/dl	0,12	0,045	0,11	0,075
cHDL, mg/l	0,07	0,320	0,06	0,365
Tabaquismo, S/N	0,13	0,030	0,13	0,033
Fibrinógeno, mg/dl	0,17	0,007	0,17	0,005
hs-PCR ^a , mg/l	0,02	0,637	0,03	0,567
FvW, %	0,17	0,007	0,19	0,007
Antihipertensivos, S/N			0,02	0,687
Antidiabéticos, S/N			0,08	0,228
Hipolipemiantes, S/N			0,13	0,046

^aVariables analizadas con transformación logarítmica. cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad; FvW: factor von Willebrand; hs-PCR: proteína C reactiva ultrasensible; IMC: índice de masa corporal; M: mujer; MMP: metaloproteasas; N: no; S: sí; V: varón.

Dada la asociación entre MMP-10 y el EIM carotídeo, se analizó el EIM por los terciles de MMP-10. El EIM carotídeo era mayor en el tercil superior de MMP-10 en relación al medio (0,80 ± 0,25 frente a 0,73 ± 0,20 mm; p < 0,05) y al tercil menor (0,70 ± 0,16 mm; p < 0,01); además, la diferencia persistió tras ajustar por factores de riesgo ateroscлерótico tradicionales y marcadores inflamatorios (OR ajustada 6,3; p = 0,024) (tabla 5). Finalmente, los valores de MMP-10 fueron superiores en pa-

Tabla 5. Odds ratio (OR) ajustadas (intervalo de confianza [IC] del 95%) para el espesor íntima-media (EIM) carotídeo (mm) por terciles de MMP-10 (pg/ml)

	Terciles MMP-10		
	T1 Referencia	T2 OR (IC del 95%)	T3 OR (IC del 95%)
Sin ajustar	1,00	1,14 (0,2-5,3)	5,4 (1,7-17,5) ^b
Modelo 1 ^c	1,00	1,34 (0,2-10,5)	5,7 (1,3-27,2) ^a
Modelo 2 ^d	1,00	1,56 (0,2-12,8)	6,3 (1,3-31,4) ^a

^ap < 0,05. ^bp < 0,01. ^cAjustado para edad, sexo, tabaquismo, hipertensión, índice de masa corporal, colesterol, fibrinógeno y hs-PCR. ^dAdicionalmente ajustado para terapias antiateroscлерóticas. hsPCR: proteína C reactiva de alta sensibilidad; MMP: metaloproteasas.

cientes con placas en las carótidas (n = 78) que en los pacientes sin placas (n = 322), tras ajustar para edad y sexo (792,93 ± 36,9 pg/ml frente a 642,02 ± 17,5 pg/ml; p < 0,01).

Discusión

Las MMP pueden favorecer el desarrollo de placas inestables^{1,29}, pero también el remodelado vascular^{11,30,31} y la rigidez arterial⁹. En el presente estudio, en una serie de sujetos sin enfermedad cardiovascular hemos observado que valores elevados de MMP-10 se asocian tanto con un aumento de marcadores inflamatorios sistémicos, como con un incremento en el EIM carotídeo y con la presencia de placas carotídeas. Además esta asociación no depende de factores de riesgo ateroscлерótico tradicionales, marcadores inflamatorios (fibrinógeno, hs-PCR y FvW) y tratamiento antiateroscлерótico. Por lo tanto, hemos demostrado una asociación independiente entre la MMP-10 sistémica (estromelisin-2) y la ateroscлерosis subclínica en una amplia serie de sujetos asintomáticos. Los valores de MMP-10 fueron mayores en diabéticos y fumadores, y existió una correlación significativa con el riesgo vascular global PROCAM en el subgrupo de varones. Aunque estudios anteriores habían demostrado asociaciones entre los factores de riesgo ateroscлерótico y los valores de MMP-3 y 9 en pacientes con enfermedad cardiovascular^{3,4,32}, ningún estudio había descrito previamente su relación con la MMP-10 circulante.

De acuerdo con un estudio reciente de nuestro grupo que muestra una correlación de MMP-10 con marcadores inflamatorios²³, en este estudio también hemos encontrado una correlación significativa entre MMP-10 y fibrinógeno y MMP-10 y hs-PCR pero no con la IL-6, lo que indica que no

todos los marcadores inflamatorios aumentan la MMP-10 y que existen mecanismos diferentes para PCR e IL-6 como marcadores de riesgo cardiovascular³³.

Aún no se ha determinado si los valores elevados de MMP-10 pueden predecir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares; en esta línea, nuestro trabajo demuestra que la MMP-10 se asocia con un incremento del EIM y con la presencia de placas de ateroma en arterias carótidas, que se mantiene significativa tras ajustar para factores de riesgo ateroesclerótico tradicionales, marcadores inflamatorios y fármacos antiateroescleróticos, lo que sugiere una asociación independiente de MMP-10 con la aterosclerosis subclínica. Estos datos se corroboraron al observar que el EIM carotídeo estaba significativamente más elevado en los sujetos pertenecientes al tercil superior de MMP-10. En nuestro estudio no encontramos ninguna asociación entre la MMP-9 y el EIM carotídeo, en contraste con los datos de otro trabajo en pacientes con aterosclerosis³, probablemente por la diferente naturaleza de las poblaciones analizadas.

Nuestros datos apoyan una nueva hipótesis basada en que la MMP-10 puede desempeñar un papel en la aterogénesis, no sólo a través de la degradación de la MEC que conduciría a la inestabilidad de la lesión, sino también en las etapas iniciales del desarrollo y el crecimiento de la placa ateroesclerótica. El engrosamiento de la íntima en respuesta a una lesión o durante la aterogénesis puede estar asociado con un aumento en la proliferación de las células vasculares de músculo liso (VSMC) y la cantidad de MEC producida por éstas. La mayoría de las VSMC que se localizan en la íntima provienen probablemente de la migración/proliferación de la capa media o de la diferenciación de precursores circulantes³⁴, y las MMP desempeñan un papel regulador clave en estas interacciones matriz-célula y célula-célula. Filippov et al³⁵ han demostrado recientemente el papel de la MMP-14 en la migración *in vitro* de las VSMC y el espesor de la arteria de carótida de ratón *in vivo*, pero es poco conocido el papel de las MMP en la proliferación VSMC³⁶. En concreto, la MMP-10 es capaz de activar varias MMP, incluyendo MMP-1, 7, 9 y 13^{16,17}, que podrían ser relevantes en la degradación de colágeno mediada por las CE, que favorecería la migración celular y el crecimiento de la íntima^{29,30,37}.

La mayor parte de los estudios se han centrado en la degradación de la MEC mediada por MMP-10 como un factor principal en el crecimiento y extensión de los tumores³⁸. Se ha demostrado la sobreex-

presión de MMP-10 en varios carcinomas, incluyendo el de cabeza y cuello, el oral, el esofágico, el pulmonar y el de piel^{18,39}. Algunos de estos estudios sugieren que la MMP-10 está implicada en el remodelado de la MEC asociado con el crecimiento y la extensión de las células metastásicas más que con la progresión a metástasis de la enfermedad¹⁸. Durante la reepitelización de las heridas, la MMP-10 se expresa por los queratinocitos que migran, y es crucial en la degradación controlada de la matriz que se produce en el lugar de la lesión⁴⁰. Además, es interesante destacar que las citocinas inducen la expresión de MMP-10, y que las células que expresan MMP-10 en la lesión también sintetizan laminina-5⁴¹, una proteína crucial de la MEC en la migración y la reparación celular que sigue a la lesión.

Es interesante resaltar que cáncer y aterosclerosis pueden compartir vías comunes en el endotelio vascular⁴². Sin embargo, se conoce poco el posible papel fisiopatológico de la MMP-10 en la progresión ateroesclerótica humana. Henney et al¹⁹ demostraron un incremento en la expresión de MMP-10 en placas ateroescleróticas. Además, nuestro grupo ha demostrado recientemente un aumento de la expresión de MMP-10 en las placas ateroescleróticas de arterias carótidas humanas, colocalizando con macrófagos y células endoteliales²³, lo que podría indicar un aumento en la síntesis de MMP-10 en las lesiones ateroescleróticas, que podría contribuir a incrementar los valores circulantes de MMP-10 de pacientes con mayor EIM carotídeo y, por tanto, estar asociada al proceso de crecimiento de la íntima. Finalmente, en pacientes con aneurismas aórticos abdominales se han descrito recientemente cambios en la secuencia de ADN del gen de la MMP-10⁴³.

Por tanto, hemos demostrado una asociación independiente entre valores elevados de MMP-10 en suero y aterosclerosis carotídea, evaluada de manera no invasiva por el EIM carotídeo y por la presencia de placas ateroescleróticas en sujetos asintomáticos, lo que sugiere una relación entre MMP-10 y aterosclerosis precoz. Los valores circulantes de MMP-10 pueden representar un nuevo marcador de riesgo ateroesclerótico en sujetos sin enfermedad clínica ateroesclerótica, si bien se requieren más estudios para poder establecer su papel en el desarrollo de aterosclerosis.

Bibliografía

1. Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest.* 1994;94:2493-503.

2. Orbe J, Fernández L, Rodríguez JA, Rábago G, Belzunce M, Monasterio A, et al. Different expression of MMP/TIMP-1 in human atherosclerotic lesions. Relation to plaque features and vascular bed. *Atherosclerosis*. 2003;170:269-76.
3. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, et al; AtheroGene Investigators. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation*. 2003;107:1579-85.
4. Dollery CM, Libby P. Atherosclerosis and proteinase activation. *Cardiovasc Res*. 2006;69:625-35.
5. Garcia-Touchard A, Henry TD, Sangiorgi G, Spagnoli LG, Mauriello A, Conover C, et al. Extracellular proteases in atherosclerosis and restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:1-9.
6. Newman KM, Ogata Y, Malon AM, Irizarry E, Gandhi RH, Nagase H, et al. Identification of matrix metalloproteinases 3 (stromelysin-1) and 9 (gelatinase B) in abdominal aortic aneurysm. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1315-20.
7. Tamarina NA, McMillan WD, Shively VP, Pearce WH. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in aneurysms and normal aorta. *Surgery*. 1997;122:264-72.
8. Lamblin N, Bauters C, Hermant X, Lablanche JM, Helbecque N, Amouyel P. Polymorphisms in the promoter regions of MMP-2, MMP-3, MMP-9 and MMP-12 genes as determinants of aneurysmal coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:43-8.
9. Yasmin SW, McEniery CM, Dakham Z, Pusalkar P, Maki-Petaja K, Ashby MJ, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:372-8.
10. Pasterkamp G, Schoneveld AH, Hijnen DJ, de Klein DP, Teepen H, van der Wal AC, et al. Atherosclerotic arterial remodeling and the localization of macrophages and matrix metalloproteinases 1, 2, and 9 in the human coronary artery. *Atherosclerosis*. 2000;150:245-53.
11. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 2002;90:251-62.
12. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res*. 2006;69:562-73.
13. Stamenkovic I. Extracellular matrix remodeling: the role of metalloproteinases. *J Pathol*. 2003;200:448-64.
14. Nagase H. Stromelysins 1 and 2. *Methods Enzymol*. 1995;248:449-70.
15. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92:827-39.
16. Knauper V, Murphy G, Tschesche H. Activation of human neutrophil procollagenase by stromelysin 2. *Eur J Biochem*. 1996;235:187-91.
17. Nakamura H, Fugi Y, Ouchi E, Yamamoto E, Okada Y. Activation of the precursor of human stromelysin 2 and its interactions with other matrix metalloproteinases. *Eur J Biochem*. 1998;253:67-75.
18. Gill JH, Kirwan IG, Seargent JM, Martin SW, Tijani S, Anikin VA, et al. MMP-10 is overexpressed, proteolytically active, and a potential target for therapeutic intervention in human lung carcinomas. *Neoplasia*. 2004;6:777-85.
19. Henney AM, Wakeley PR, Davies MJ, Foster K, Hembry R, Murphy G, et al. Localization of stromelysin gene expression in atherosclerotic plaques by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88:8154-8.
20. Mancini GBJ, Dahlof B, Diez J. Surrogate markers for cardiovascular disease: structural markers. *Circulation* 2004;109:IV22-IV30.
21. Ridker PM. High Sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global vascular risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 2001;103:1813-8.
22. Verma S, Szmitko PE, Ridker PM. C-reactive protein comes of age. *Nature Clin Pract Cardiovasc Med*. 2005;2:29-36.
23. Montero I, Orbe J, Varo N, Beloqui O, Monreal JI, Rodríguez JA, et al. C-reactive protein induces MMP-1 and MMP-10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:1369-78.
24. Assman 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.
25. Paramo JA, Orbe J, Beloqui O, Benito A, Colina I, Martínez-Vila E, et al. Prothrombin fragment 1+2 is associated with carotid intima-media thickness in subjects free of clinical cardiovascular disease. *Stroke*. 2004;35:1085-9.
26. Beloqui O, Paramo JA, Orbe J, Benito A, Colina I, Monasterio A, et al. Monocyte cyclooxygenase-2 overactivity: a new marker of subclinical atherosclerosis in asymptomatic subjects with cardiovascular risk factors? *Eur Heart J*. 2005;26:153-8.
27. 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;89:1226-1.
28. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarencu P, Desvarieux M, et al; Advisory Board of the 3rd Watching the Risk Symposium 2004, 13th European Stroke Conference. Mannheim intima-media thickness consensus. *Cerebrovasc Dis*. 2004;18:346-59.
29. Sukhova GK, Schönbeck U, Rabkin E, Schoen FJ, Poole AR, Billingham RC, et al. Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atherosclerotic plaques. *Circulation*. 1999;99:2503-9.
30. Godin D, Ivan E, Johnson C, Magid R, Galis ZS. Remodeling of carotid artery is associated with increased expression of matrix metalloproteinases in mouse blood flow cessation model. *Circulation*. 2000;102:2861-6.
31. Bendeck MP, Zempo N, Clowes AW, Galardy RE, Reidy MA. Smooth muscle cell migration and matrix metalloproteinase expression after arterial injury in the rat. *Circ Res*. 1994;75:539-45.
32. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, Kai M, Seki Y, Kuwahara F, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:368-72.
33. Pradhan AD, Manson JE, Rossouw JE, Siscovick DS, Mouton CP, Rifai N, et al. Inflammatory biomarkers, hormone replacement therapy, and incident coronary heart disease: prospective analysis from the Women's Health Initiative observational study. *JAMA*. 2002;288:980-7.
34. Owens GK, Kumar MS, Wamhoff BR. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease. *Physiol Rev*. 2004;84:767-801.
35. Filippov S, Koenig GC, Chun T-H, Hotary KB, Ota I, Bugge TH, et al. MT-1 matrix metalloproteinase directs arterial wall invasion and neointima formation by vascular smooth muscle cells. *J Exp Med*. 2005;202:663-71.
36. Aguilera CM, George SJ, Johnson JL, Newby AC. Relationship between type IV collagen degradation, metalloproteinase activity and smooth muscle cell migration and proliferation in cultured human saphenous veins. *Cardiovasc Res*. 2003;58:679-88.
37. Saunders WB, Bayless KJ, Davis GE. MMP-1 activation by serine proteases and MMP-10 induces human capillary tubular network collapse and regression in 3D collagen matrices. *J Cell Science*. 2005;118:2325-40.
38. Folgueras AR, Pendas AM, Sánchez LM, López-Otin C. Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies. *Int J Dev Biol*. 2004;48:411-24.
39. Kerkela E, Ala-Aho R, Lohi J, Grenman R, Saaralo-Kere U. Differential patterns of stromelysin-2 (MMP-10) and MT1-MMP (MMP-14) expression in epithelial skin cancers. *Br J Cancer*. 2001;84:659-69.
40. Krampert M, Bloch W, Sasaki T, Bugnon P, Rütlicke T, Wolf E, et al. Activities of the matrix metalloproteinase stromelysin-2 (MMP-10) in matrix degradation and keratinocyte organization in wounded skin. *Mol Biol Cell*. 2004;15:5242-54.
41. Giannelli G, Antonaci S. Biological and clinical relevance of laminin-5 in cancer. *Clin Exp Metastasis*. 2000;18:439-43.
42. Morganti M, Carpi A, Nicolini A, Gorini I, Glaviano B, Fini M, et al. Atherosclerosis and cancer: common pathways on the vascular endothelium. *Biomed Pharmacother*. 2002;56:317-24.
43. Ogata T, Shibamura H, Tromp G, Sinha M, Goddard KAB, Sakalihan 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.