



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA

**“Participación del polimorfismo del gen de la
metaloproteasa 9 (MMP9-1562 C/T) en pacientes
con Infarto al Miocardio”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

TANIA XIMENA ZAGAL JIMÉNEZ

Director:

Dr. José Manuel Rodríguez Pérez

Asesor:

Dra. Raquel Retana Ugalde



JUNIO 2014

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a todo su equipo docente por brindarme la oportunidad de formarme académicamente.

Al Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” y a los miembros del Laboratorio de Genómica, en especial a los Doctores José Manuel, Nonantzin y Nancy por la oportunidad y el apoyo brindado.

A la Dra. Retana, M. en C. Fabiola, M. en C. Rosa Elba y M. en C. Anibal, por su asesoría, así como, el tiempo brindado a la lectura y corrección de este proyecto.

A toda mi familia, a mis hermanos de vida (Dafne, Cristian y Ulises), a todos los que me acompañaron a lo largo de este viaje llamado universidad, en especial a aquellos que sin importar nada siempre estuvieron presentes (Irving, Luis, Naye, Beatriz, Abigail y Lobera).

Gracias a todos ustedes por haber hecho posible este gran logro académico.

Soy de los que piensan que la ciencia tiene una gran belleza.
Un científico en su laboratorio no es solamente un teórico.
Es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le
impresionan como un cuento de hadas.
Marie Curie.

Dedicatoria

A mis padres María de los Ángeles y Guillermo: (mis héroes) por ser mi más grande apoyo, fuerza y ejemplo de valentía; sin ustedes no habría logrado cumplir este sueño compartido, gracias por esforzarse día a día y por todo el amor que nos dan a diario. Los amo.

A mi hermana Zayra por quererme, protegerme, apoyarme, consentirme, escucharme, creer en mí siempre, por sus ocurrencias y por ser un gran ejemplo; te admiro profundamente. Te amo hermanita =)

A mis tíos que siempre están al pendiente de mí, estando presentes en todos los momentos importantes y no tan importantes de mi vida; regañándome, consintiéndome, aconsejándome y protegiéndome.

A mis primos: Christian, Vanya, Sarahí, Valeria, Pedro, Gaby, Victoria y Kyrios†, por su amor de hermanos y por ser mi motivación para ser mejor cada día.

Finalmente, a mis abuelos† por haber formado la maravillosa familia que somos. Siempre están presentes en mi mente y en mi corazón.

Si uno avanza confiadamente en dirección de sus sueños, y se esfuerza por vivir la vida que ha imaginado, se encontrará con un éxito inesperado en algún momento.
Henry David Thoreau.

Tabla de contenido

Abreviaturas.....	6
Índice de Figuras	7
Índice de Cuadros.....	8
1.Resumen	9
2. Marco teórico	11
2.1 Infarto de miocardio.....	11
2.2 Epidemiología	11
2.2.1 Morbilidad.....	12
2.2.2 Mortalidad.....	13
2.3 Clasificación de IM	14
2.4 Diagnóstico	15
2.5 Factores de riesgo.....	17
2.6 Anatomía del sistema cardiovascular.....	17
2.6.1 Vasos sanguíneos	17
2.6.2 Corazón.....	19
2.6.3 Circulación.....	21
2.7 Fisiopatología del IM	21
2.7.1 Placa aterosclerótica	22
2.7.2 Matriz extracelular	26
2.7.3 Metaloproteasas	28
2.7.4 MMPs y la ruptura de la placa aterosclerótica	33

2.8 MMP-9.....	33
3. Planteamiento del problema	37
4. Hipótesis	38
5. Objetivos.....	39
5.1 Objetivos particulares.....	39
6. Material y métodos.....	40
6.1 Diseño del estudio.....	40
6.1.1 Tipo de estudio	40
6.1.2 Población de estudio	40
6.1.3 Criterios de selección	40
6.1.4 Variables.....	42
6.2 Método	42
6.2.1 Extracción de ADN	42
6.2.2 Cuantificación de ADN.....	43
6.2.3 PCR-RFLP.....	43
6.3 Diseño estadístico	46
7.Resultados.....	48
8.Discusión	51
9.Conclusión	54
10.Perspectivas	55
11.Referencias.....	56

Abreviaturas

ACV. Accidente Cerebro Vascular	LDL. Lipoproteína de baja densidad
AD. Aurícula derecha	MCP. Proteína quimioatrayente de monocitos
ADN. Ácido desoxirribonucleico	MEC. Matriz extracelular
AI. Aurícula izquierda	MMPs. Metaloproteasas
AV. Auriculoventricular	MMP-9. Metaloproteasa 9
CK-MB. Isoenzima MB de la creatina cinasa	MT-MMP. Metaloproteasa asociada a membrana
CML. Célula del musculo liso	OMS. Organización Mundial de la Salud
cTn. Troponina cardiaca	pb. Pares de bases
DM2. Diabetes Mellitus tipo 2	PCR. Reacción en cadena de la polimerasa
EAC. Enfermedad arterial coronaria	PDGF. Factor de crecimiento derivado de plaquetas
ECG. Electrocardiograma	PIB. Producto Interno Bruto
ECV. Enfermedad Cardiovascular	PM. Peso Molecular
EGF. Factor de crecimiento epidérmico	SICA. Síndrome isquémico coronario agudo
IAM. Infarto agudo de miocardio	SNP. Polimorfismo de un solo nucleótido
IAMCEST. Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST	TGF. Factor de crecimiento transformante
IAMSEST. Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST	TIMPs. Inhibidores tisulares de MMPs
IL. Interleucina	TNF. Factor de necrosis tumoral
IM. Infarto de miocardio	VD. Ventrículo derecho
INC. Instituto Nacional de Cardiología	VI. Ventrículo izquierdo
INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía	

Índice de Figuras

Figura 1. Principal causa de egreso hospitalario por género, en población de 56 años y más durante el 2011 en el D.F.

Figura 2. Principales causas de defunción en la población mayor de 60 años.

Figura 3. Diferencia entre Infarto de miocardio tipo 1 y 2.

Figura 4. Electrocardiograma.

Figura 5. Estructura de la pared arterial en condiciones no patológicas.

Figura 6. Estructura general del corazón.

Figura 7. Flujo laminar y turbulento.

Figura 8. Pasos iniciales de la aterosclerosis.

Figura 9. Progreso de la lesión aterosclerótica.

Figura 10. Ruptura de la Placa aterosclerótica.

Figura 11. Estructura general de las MMPs.

Figura 12. Estructura de la MMP-9.

Figura 13. Cromosoma 20 y estructura del gen de la MMP-9.

Figura 14. Amplificados obtenidos de PCR en punto final.

Figura 15. Análisis por PCR-RFLP del polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9.

Índice de Cuadros

Cuadro 1. Metaloproteasas, sus activadores y sus substratos.

Cuadro 2. Condiciones empleadas durante la PCR-punto final.

Cuadro 3. Condiciones empleadas en la digestión enzimática.

Cuadro 4. Características clínico-demográficas de la población en estudio.

Cuadro 5. Distribución genotípica del polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 en la población de estudio.

Cuadro 6. Frecuencias alélicas del polimorfismo -1562 en el gen de la MMP-9 en la población en estudio.

Cuadro 7. Relación entre los factores de riesgo con el polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 en el grupo de casos.

1. Resumen

Introducción. Las enfermedades cardiovasculares incluyendo el infarto de miocardio (IM) se encuentran dentro de las primeras causas de mortalidad en México; a nivel mundial representan el 30% del total de defunciones. Dentro de las principales causas por las que se presenta el IM se encuentra la ruptura de la placa aterosclerótica, proceso en el que se ven involucradas las metaloproteasas (MMPs) enzimas encargadas de la degradación de la matriz extracelular (MEC). Las MMPs se clasifican en cinco subfamilias: colagenasas, gelatinasas, estromelinas, metaloproteasas de membrana y otras; dentro de las gelatinasas, se encuentra la metaloproteasa 9 (MMP-9, Gelatinasa A, Colagenasa del tipo IV), enzima que tiene como función degradar gelatina, elastina, colágeno tipo III, IV y V, entre otros componentes presentes en la MEC; dicha enzima se ha encontrado en mayor concentración en áreas de placa aterosclerótica que han sufrido ruptura, por ello se considera que un aumento en la expresión de MMP-9 podría proporcionar susceptibilidad para padecer infarto al miocardio; estudios previos realizados en poblaciones diferentes a la mexicana han demostrado la asociación del polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 con un incremento en la expresión de dicha enzima y por ende con la susceptibilidad de presentar IM.

Objetivo. Determinar la presencia de susceptibilidad o protección genética asociada al polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 en pacientes mexicanos que presentaron IAM, en comparación del grupo control.

Material y método. Se estudió el polimorfismo del gen de la MMP9 -1562 C/T, para lo cual se analizaron 554 muestras de sangre; 255 casos (hombres y mujeres mexicanos mayores de 35 años, con diagnóstico de IAM que ingresaron al INC "Ignacio Chávez") y 299 controles (hombres y mujeres mexicanos mayores de 35 años, sin antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular y electrocardiograma normal). El ácido desoxirribonucleico (ADN) de todas las muestras se obtuvo a partir de 5 mL de sangre

periférica tomada en tubos Vacutainer® con EDTA, empleando la técnica salting-out. El ADN extraído se cuantificó empleando espectrofotometría UV y su integridad se verificó realizando electroforesis en gel de agarosa, posteriormente se realizaron alícuotas con concentración de 10 µg/mL de ADN, las cuales se procesaron empleando la técnica PCR en punto final; los amplificados obtenidos se verificaron empleando electroforesis en gel de agarosa, y se sometieron a una digestión enzimática durante 16 horas, finalmente, se tipificaron en un gel de agarosa al 4% teñido con bromuro de etidio; los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente.

Resultados. El análisis estadístico de las características clínico demográficas indicó que padecer obesidad, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión y pertenecer al género masculino son variables representativas del grupo de casos, ya que las diferencias fueron estadísticamente significativas, al compararlos con los controles. La población incluida en dicho estudio se encontró en equilibrio de Hardy Weinberg; y las frecuencias genotípicas obtenidas indican una mayor prevalencia del genotipo C/C en controles, y de los genotipos C/T y T/T en casos.

Conclusiones. Se determinaron los genotipos y alelos del polimorfismo -1562 C/T del gen de la MMP-9 en los individuos incluidos en el estudio, y después de ser analizados estadísticamente, se observó una posible asociación entre el polimorfismo -1562 C/T y el infarto agudo de miocardio ocasionado por ruptura de la placa aterosclerótica en población mexicana, donde la presencia del alelo T podría estar confiriendo susceptibilidad.

2. Marco teórico

2.1 Infarto de miocardio

El infarto Agudo de Miocardio (IAM) forma parte del Síndrome Isquémico Coronario Agudo (SICA), término que agrupa un amplio espectro de cuadros de dolor de origen isquémico que van desde la angina inestable y el IAM sin elevación del segmento ST hasta el IAM con elevación del segmento ST^{1,2}. El infarto al miocardio (IM) puede ser la primer manifestación de la enfermedad arteria coronaria, o puede ocurrir repentinamente, en pacientes con la enfermedad ya establecida^{3,4}.

El IM se refiere a la muerte de la célula miocárdica en un entorno clínico consistente debido a la isquemia prolongada; que se presenta por la interrupción abrupta y súbita del flujo arterial coronario, generalmente relacionado con fenómenos trombóticos agudos asociados con lesiones coronarias, tras la ruptura de una placa aterosclerótica; lo que ocasiona disminución del flujo sanguíneo y por ende, un desequilibrio entre el aporte y la demanda de oxígeno a nivel miocárdico² causando isquemia, seguida de la muerte del músculo cardiaco, tras el inicio de la isquemia, la muerte no se da inmediatamente, tiene que pasar un periodo prolongado para poder ocasionar necrosis total de las células miocárdicas^{3,4}.

2.2 Epidemiología

El IM es el principal indicador de la presencia de enfermedades cardiovasculares (ECV), uno de los principales problemas de salud a nivel mundial; estas enfermedades se deben al aumento en la expectativa de vida, así como la presencia de factores psicosociales en la población³⁻⁵.

2.2.1 Morbilidad

De acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en el Distrito Federal durante el 2011, del total de egresos hospitalarios en el D.F., 16.7% ocurren en personas de 65 años y más, así, la principal causa de egreso hospitalario para la población adulta mayor se debe a enfermedades cardiovasculares⁶ (Figura 1).



Figura 1. Principal causa de egreso hospitalario por género, en población de 56 años y más durante el 2011 en el D.F.

Tomado de INEG 2013. Estadística a propósito del día internacional de las personas de edad⁶.

Estudios realizados por el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” han indicado que la edad promedio en la que se presenta el IM es de 62 ± 12 años, con un predominio en el género masculino (78%), y que del total de casos de IM el 34.8% pertenecen a IAM con elevación del segmento ST, también se indicó que el dolor torácico es la principal manifestación clínica (80%) que se presenta durante el IM⁷.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó que la población de países de bajo y mediano ingreso son más propensos a padecer ECV debido a que están más expuestos a los factores de riesgo⁸; se cree que el 80% de los IM son prevenibles, en donde una dieta sana, actividad física y la abstinencia del uso de tabaco son fundamentales, por lo cual, se han implementado una gran cantidad de campañas preventivas a nivel mundial^{5,8}.

2.2.2 Mortalidad

Según el INEGI, el aumento en la esperanza de vida de los mexicanos ha provocado que la mayor parte de las defunciones, se de en edades avanzadas; el 61.4% de muertes registradas corresponde a personas de 60 años y más, donde las principales causas de fallecimiento son la diabetes mellitus seguida de las enfermedades isquémicas del corazón⁹ (Figura2). Esta misma institución indicó que durante el 2011 en el Distrito Federal el IAM fue la segunda causa de muerte representando el 13.9% de fallecimientos masculinos y 14.7% de los femeninos¹.

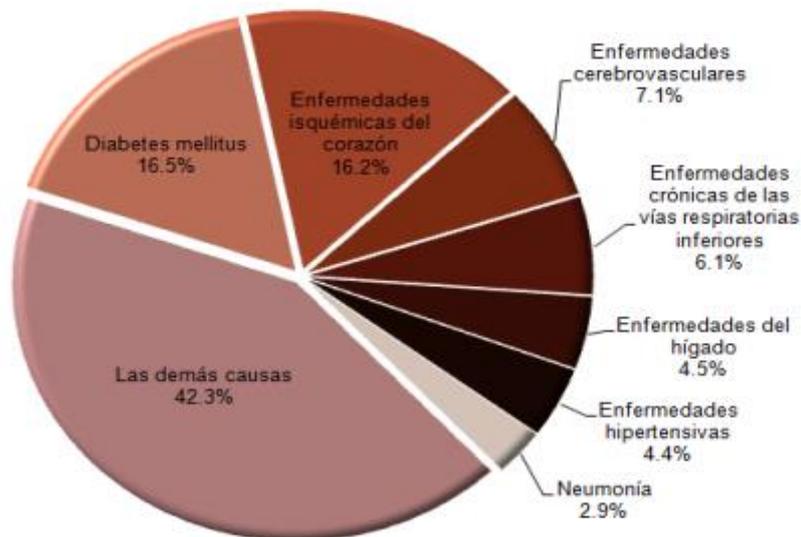


Figura 2. Principales causas de defunción en la población mayor de 60 años.

Tomado de INEG 2013. Estadística a propósito del día internacional de las personas de edad⁹.

Según la OMS durante el 2008 las ECV fueron la principal causa de muerte en todo el mundo, cobrando alrededor de 17.3 millones de vidas; lo equivalente al 30% del total de muertes registradas, donde 4 de cada 5 de estos decesos se presentaron en países subdesarrollados. Se calcula que en el 2030 morirán cerca de 23.3 millones de personas alrededor del mundo por estas causas; y hablando en términos de economía, la muerte prematura de personas con enfermedades no transmisibles como las ECV y la diabetes son una carga para las economías de los países de bajo y mediano ingresos ya que se calcula que pueden reducir hasta en un 6.77% el Producto Interno Bruto (PIB)⁸.

2.3 Clasificación de IM

De acuerdo a la European Society of Cardiology (ESC), el IAM se puede clasificar según las diferencias anatomopatológicas, clínicas y pronósticas presentadas^{1,3}:

- Tipo 1. Infarto al miocardio espontáneo: Episodio relacionado con la ruptura, úlcera, erosión o disección de la placa aterosclerótica ocasionando la formación de un trombo que obstruye una o más arterias coronarias provocando la muerte de los cardiomiocitos (Figura 3).
- Tipo 2. Infarto al miocardio secundario a desequilibrio isquémico: Episodio en donde otra enfermedad (anemia, arritmia, hipotensión, hipertensión) que no sea la enfermedad arterial coronaria (EAC) ocasiona un incremento del consumo de oxígeno o disminución del aporte (Figura 3).
- Tipo 3. Infarto al miocardio mortal: Muerte cardíaca inesperada antes de que se presente un aumento en la presencia de biomarcadores, con síntomas sugestivos de isquemia miocárdica y presuntos cambios en el electrocardiograma (ECG).
- Tipo 4a. Infarto al miocardio relacionado con la intervención coronaria percutánea.
- Tipo 4b. Infarto al miocardio relacionado con la trombosis del stent.
- Tipo 5. Infarto al miocardio relacionado con la cirugía de revascularización coronaria.

El IAM también se puede clasificar dependiendo la magnitud de la ruptura en la placa aterosclerótica y del tipo de trombo que se forma¹⁰.

- Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST (IAMSEST): Se ve ocasionado por ruptura de la placa y la formación de un trombo no oclusivo con predominio plaquetar, si no se estabiliza se complica en infarto agudo de miocardio con elevación persistente.

- Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST): Tiene su origen en la oclusión de una arteria coronaria importante ocasionando reducción del flujo coronario, esto se debe a la alteración física de una placa aterosclerótica seguida de la formación de un trombo oclusivo con predominio de fibrina.

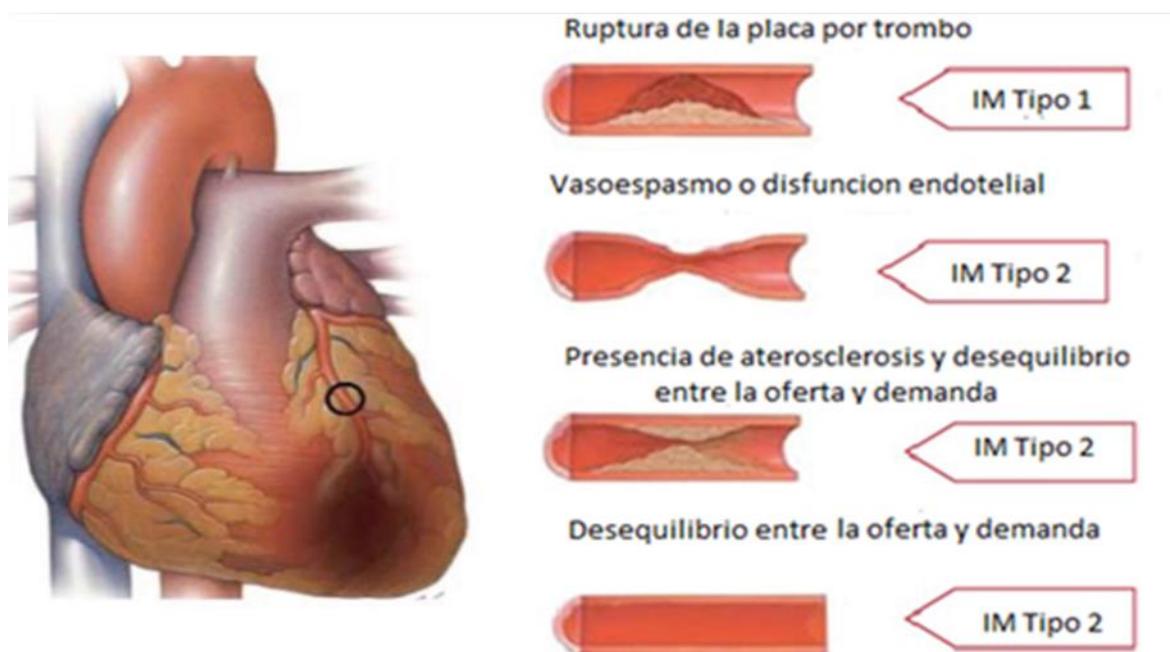


Figura 3. Diferencia entre Infarto de miocardio tipo 1 y 2.

Tomado y modificado de Thygesen K., et al. Third universal definition of myocardial infarction³.

2.4 Diagnóstico

Para poder diagnosticar el IM es importante tener en cuenta condiciones como: sintomatología, elevación o disminución de biomarcadores cardíacos, cambios electrocardiográficos, evidencia comprobada por imagen y hallazgos por anatomía patológica³⁻⁵.

La sintomatología de la presencia de isquemia comprenden; molestia en el pecho, miembros superiores en especial del lado izquierdo, dolor en la mandíbula y en el área epigástrica, disnea y fatiga; por lo regular es un dolor no localizado que dura más de 20 minutos y está acompañado de sudoración, náuseas y/o pérdida de la conciencia; sin embargo, se han presentado casos donde el paciente se muestra asintomático, o bien muestran sintomatología atípica³.

Previamente, ya se mencionó que durante el IAM las células miocárdicas o cardiomiocitos sufren isquemia, lo cual ocasiona un incremento de ciertos biomarcadores como la troponina cardíaca (cTn) o la fracción MB de la creatina cinasa (CK-MB) en la sangre; dichos valores se evalúan para confirmar la presencia del evento isquémico³.

Además, de lo antes mencionado es necesario realizar un electrocardiograma (ECG), el cual es la demostración gráfica de la actividad eléctrica del corazón debido a las modificaciones en el potencial de membrana de las células cardíacas durante los procesos de despolarización y repolarización (Figura 4); la interpretación de los ECG es de suma importancia para el diagnóstico de cardiopatías, ya que se logra determinar la duración de las señales, la amplitud y los intervalos de tiempo transcurridos entre ellas^{11,12}, permitiendo así, ubicar el episodio en el tiempo, identificar la arteria dañada, estimar la cantidad de miocardiocitos en riesgo, así como, el pronóstico del paciente y definir la estrategia terapéutica a emplear³.

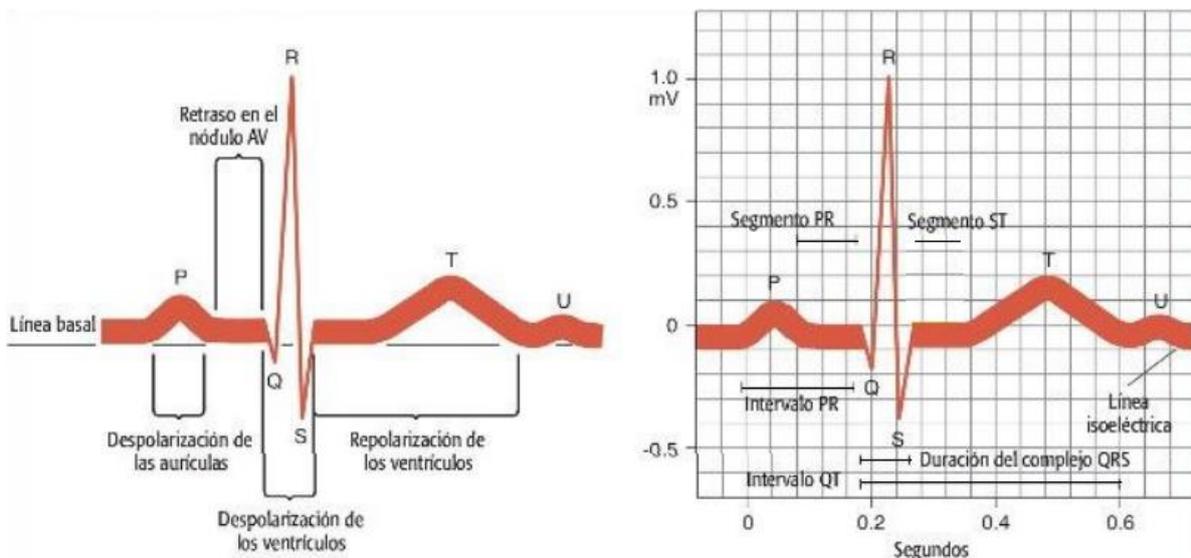


Figura 4. Electrocardiograma. La onda P representa la despolarización ventricular, el complejo QRS la despolarización ventricular y la onda T la repolarización ventricular. Tomado y modificado de Porth C. Essentials of pathophysiology¹².

Finalmente, se realizan estudios de imagen como la perfusión, que se emplea para determinar la viabilidad de los cardiomiocitos, espesor, engrosamiento y movimiento miocárdico; así como, los efectos de la fibrosis, esto se obtiene empleando ecocardiograma, ventriculogramagrafia, tomografía computarizada y resonancia magnética, entre otros³.

2.5 Factores de riesgo

El infarto de miocardio es un trastorno multifactorial y poligénico, el cual, resulta de la interacción entre la genética de una persona y diversos factores ambientales; la incidencia de presentar este evento aumenta de forma aditiva en función del número de factores de riesgo, por ende, mientras más factores de riesgo presente un individuo, mayor será su susceptibilidad a presentar un IAM¹³.

La hipertensión, la diabetes mellitus y la hipercolesterolemia, además de factores psicosociales como lo son el uso de tabaco, una alimentación poco equilibrada y la falta de ejercicio, son los principales factores de riesgo, los cuales están asociados principalmente a personas con nivel socioeconómico bajo y sometidas a estrés crónico, además de que la edad avanzada y el género masculino incrementan el riesgo de padecer dicho problema cardiovascular¹³.

Sin embargo, hay individuos que han sufrido IAM y no presentan ninguno de los factores de riesgo mencionados, es por esto, que se sugiere la existencia de genes de susceptibilidad asociados a padecer ECV incluyendo el IAM^{13,14}.

2.6 Anatomía del sistema cardiovascular

2.6.1 Vasos sanguíneos

La sangre es el tejido conjuntivo líquido, que entre otras funciones, cumple con el transporte de oxígeno, nutrientes y productos de desecho, para lo cual, es necesaria la

existencia de conductos especializados encargados de su distribución, llamados vasos sanguíneos, los cuales se clasifican en tres grupos^{15,16}:

- Venas. Conductos encargados de retornar sangre poco oxigenada al corazón, poseen una pared delgada y poco elástica, se dilatan con gran facilidad y contienen válvulas unidireccionales para prevenir el retroceso del flujo.
- Arterias. Tubos flexibles, de paredes gruesas y ligeramente elásticas, encargados de distribuir la sangre oxigenada desde el corazón al resto del cuerpo, poseen un poder contráctil que mantiene la presión sanguínea a una gran distancia del corazón.
- Capilares. Vasos de paredes finas, encargados del intercambio de sangre entre las arterias y venas.

Tanto las arterias como las venas están conformadas por tres revestimientos (Figura 5): túnica interna o íntima, túnica media y túnica externa o adventicia. La túnica íntima delimita la luz del vaso, por lo cual está en contacto con la sangre y todos sus componentes, se conforma de una monocapa de células endoteliales que permite en condiciones no patológicas que sea una superficie no trombogénica con propiedades antiinflamatorias y que contribuye a la vasoconstricción y vasodilatación. La túnica media contiene células de musculo liso (CML) embebidas en matriz extracelular^{11,17,18}; dependiendo de su espesor y composición, existen tres tipos de arterias: elásticas, musculares y arteriolas^{15,16}. Finalmente, la túnica externa o adventicia que es la capa exterior de las arterias, se compone de fibras de colágeno y de elastina, en esta capa se encuentran mastocitos, terminaciones nerviosas y capilares¹⁷.

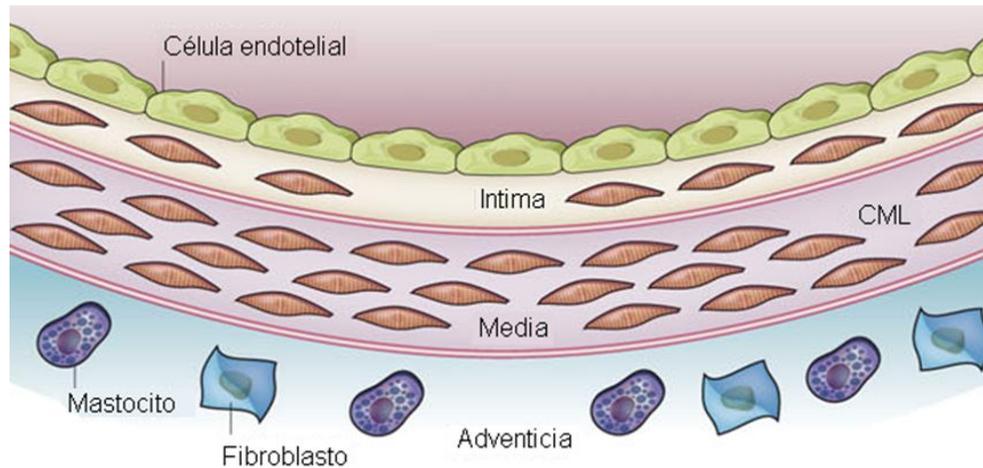


Figura 5. Estructura de la pared arterial en condiciones no patológicas. Tomado y modificado de Lo J. y Plutzky J. *The biology of atherosclerosis: General paradigms and distinct pathogenic Mechanisms Among HIV-Infected Patients*¹⁸.

2.6.2 Corazón

Además de los vasos sanguíneos, el sistema cardiovascular está conformado por el corazón, el cual es un órgano hueco de aproximadamente 250 g, ubicado en la cavidad torácica, conformado por células especializadas llamadas cardiomiocitos, este órgano es el encargado de bombear sangre a todo el organismo^{11,15,16}, está formado por dos aurículas (izquierda y derecha) divididas por el tabique interauricular y dos ventrículos (izquierdo y derecho) divididos por el tabique interventricular (IV), las aurículas se comunican con los ventrículos a través de la válvula tricúspide y la mitral (Figura 6). El corazón cuenta con un sistema específico de conducción que está formado por el nódulo sinusal, nódulo auriculoventricular (AV), el Haz de His y la Red de Purkinje estas zonas son las encargadas de transmitir impulsos eléctricos, los cuales, ocasionan la sístole y diástole del corazón, necesarias para conducir la sangre al organismo^{11,12,15}.

Al igual que el resto de los órganos, el corazón, necesita de vasos sanguíneos que lo irrigen para asegurar su funcionamiento, los cuales son, principalmente^{11,15}:

- Las arterias coronarias izquierda y derecha que nacen de la raíz aórtica y corren hacia delante a cada lado del tronco pulmonar, tienen un diámetro de 3 a 4 mm,

estos conductos proporcionan sangre oxigenada a una región específica del corazón; la arteria coronaria izquierda irriga el ventrículo y aurícula izquierda, mientras que la arteria coronaria derecha el ventrículo y aurícula derecha, así como el nodo AV; si el flujo sanguíneo de estas arterias se ve afectado ocasiona una disminución del aporte de oxígeno causando isquemia a los cardiomiocitos, y la cantidad de daño muscular depende de la arteria bloqueada y del tipo de lesión.

- Las venas coronarias, comprenden un conjunto principal (vena cardiaca magna y seno coronario) y un grupo de venas independientes (pequeñas venas del corazón, venas cardiacas mínimas).
- Los vasos linfáticos que se encuentran en el tejido conectivo subendocárdico de las cuatro cámaras cardiacas.

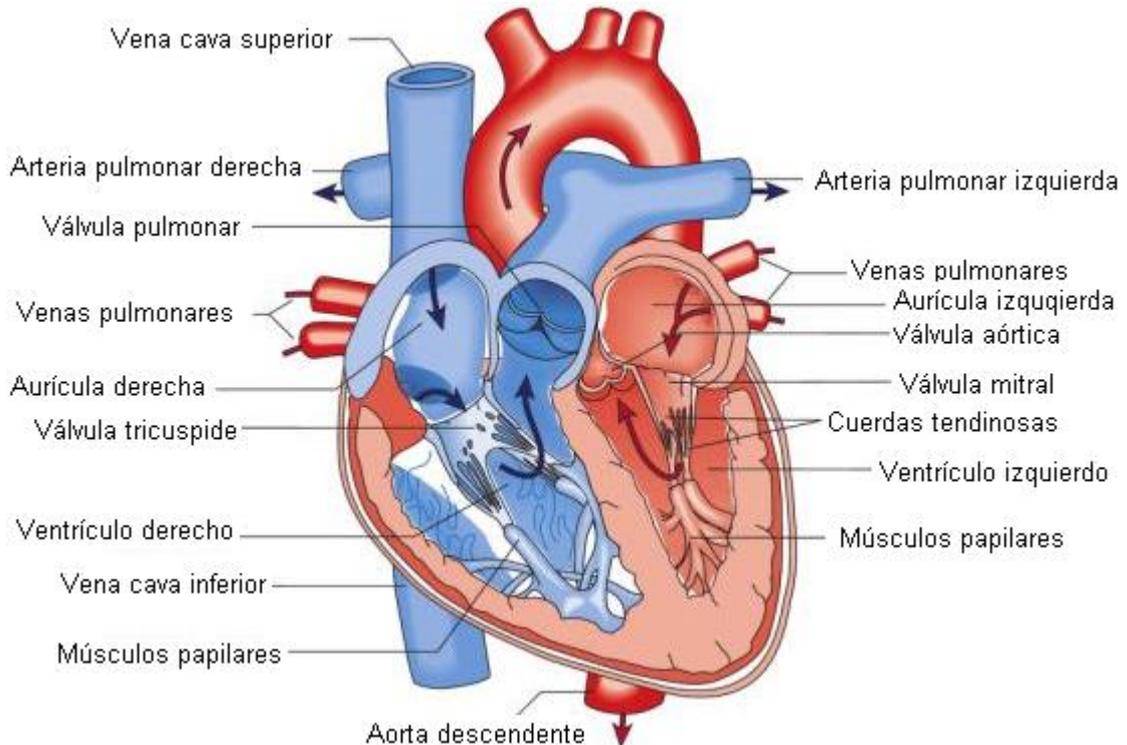


Figura 6. Estructura general del corazón.
Tomado y modificado de Porth C. Essentials of pathophysiology¹².

2.6.3 Circulación

La circulación es un circuito casi cerrado alrededor del cual la sangre es propulsada por el corazón para el transporte de materiales que mantienen el equilibrio interno de los tejidos; se aportan nutrientes y sangre oxigenada, y se eliminan materiales de desecho y CO₂; es un mecanismo que además, se encarga de la termorregulación del cuerpo¹⁷.

El corazón bombea con una gran presión la sangre, la cual es distribuida por todo el cuerpo a través de las arterias, que se ramifican en arteriolas y finalmente en una red de finos capilares, formando un lecho capilar y es aquí donde se lleva a cabo el intercambio de oxígeno, nutrientes, productos de desecho y otras sustancias con el líquido extracelular, la sangre que proviene del lecho capilar, pasa a las vénulas, las cuales se convierten en venas de mayor tamaño hasta conjuntarse en la vena cava superior e inferior que desembocan en el corazón¹⁶, específicamente en la aurícula derecha, posteriormente la sangre pasa al ventrículo derecho, y a los pulmones donde recibe oxígeno de los sacos aéreos y desprende CO₂, el cual será eliminado a través de la exhalación, la sangre oxigenada pasa a través de las venas pulmonares a la aurícula y ventrículo izquierdo quien es el encargado de enviar la sangre oxigenada al resto del organismo por la aorta^{11,15-17}.

Durante el IAM la circulación coronaria se ve afectada debido a que regiones específicas del corazón, dependiendo de la arteria dañada, dejan de ser irrigados con sangre oxigenada, ocasionando así daño celular, seguida de necrosis^{10,11,16,17}.

2.7 Fisiopatología del IM

El infarto agudo de miocardio, como se mencionó previamente, está caracterizado por la falta de oxígeno en zonas específicas del tejido muscular del corazón debido a un flujo insuficiente de sangre, que esta ocasionado por la presencia de un trombo en alguna arteria coronaria, el cual se desarrolla tras un proceso de agregación plaquetaria causado

por la ruptura abrupta, erosión o fisura de la placa aterosclerótica. Cuando la luz arterial se encuentra obstruida, la parte del corazón irrigada por esa arteria comienza a sufrir isquemia ocasionando cambios en el ritmo cardíaco; si esta persiste puede llegar a ocasionar necrosis transmural^{1,5}.

2.7.1 Placa aterosclerótica

La formación de la placa aterosclerótica es un proceso activo y focal¹⁹, que afecta la túnica íntima de arterias como la aorta, la carótida y arterias coronarias; sin embargo, en etapas avanzadas de la enfermedad también se ve afectada la túnica media del vaso²⁰.

El endotelio es un órgano biológicamente activo que desempeña un papel clave en la aterosclerosis, es la primer interfaz entre los factores de riesgo y la respuesta de mediadores¹⁸; el daño endotelial se debe a una serie de factores como son el efecto reológico del flujo vascular en donde los sitios que presentan flujo turbulento (Figura 7) están sometidos a mayor estrés, como son las curvaturas, los puntos de ramificación y bifurcaciones dando así, lugar a la formación de la placa^{12,19-22}; además de este efecto propio de la arteria se encuentran factores de riesgo como hipercolesterolemia, tabaquismo, diabetes y en algunos casos agentes infecciosos, entre otros¹⁹; también puede deberse a un cambio en el patrón de secreción de diferentes sustancias por el endotelio como lo son la reducción de la biodisponibilidad de óxido nítrico (vasodilatador) y al aumento en el tejido de endotelina-1 (vasoconstrictor), ocasionando la activación de vías de señalización proinflamatorias y la expresión de moléculas de adhesión lo que facilita la activación de monocitos y su adhesión a la zona dañada²⁰⁻²³.

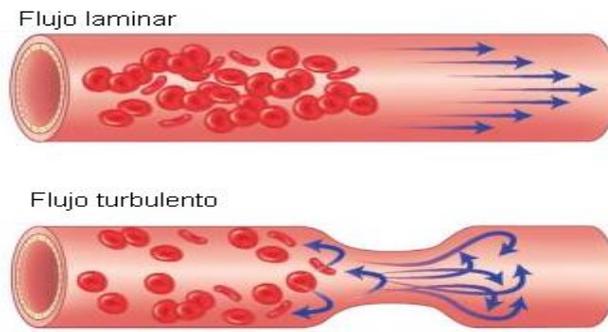


Figura 7. Flujo laminar y turbulento.
Tomado y modificado de Porth C. Essentials of pathophysiology¹².

Durante la respuesta inflamatoria, las células endoteliales que son las encargadas de la regulación vascular sufren cambios denominados activación de las células endoteliales, que se caracterizan por reducción de sus propiedades antitrombóticas, adhesión de leucocitos y finalmente aumento de permeabilidad²¹, lo cual permite la entrada de lipoproteína de baja densidad (LDL por sus siglas en inglés) al espacio subendotelial produciendo engrosamiento en el interior de la pared, cuando esta lipoproteína es almacenada se somete a un proceso oxidativo, el cual es sumamente tóxico y actúa como agente quimiotáctico de monocitos, los cuales se adhieren al endotelio mediante factores de adhesividad y posteriormente migran al subendotelio donde comienza a fagocitar (macrófago) los LDL oxidados. Si el ingreso de LDL se sigue produciendo, esto a causa de factores de riesgo¹⁹, se desencadena una serie de reacciones proinflamatorias a través de diferentes mediadores (TNF- α , IL-1, MCP-1) prolongando la activación y reclutamiento de monocitos, macrófagos y células inflamatorias; el exceso de LDL oxidado provoca que los macrófagos se sobresaturen y sufran apoptosis, formando células espumosas (Figura 8)¹⁸⁻²³.

El endotelio dañado induce a la vasoconstricción y a la adhesión de plaquetas las cuales atrae CML a la íntima ocasionando la formación de tejido conectivo y finalmente causando una hiperplasia intimal; aunado a esto se presenta un aumento en la síntesis de macromoléculas como colágeno, elastina y proteoglicanos (Figura 9)^{18,19}.

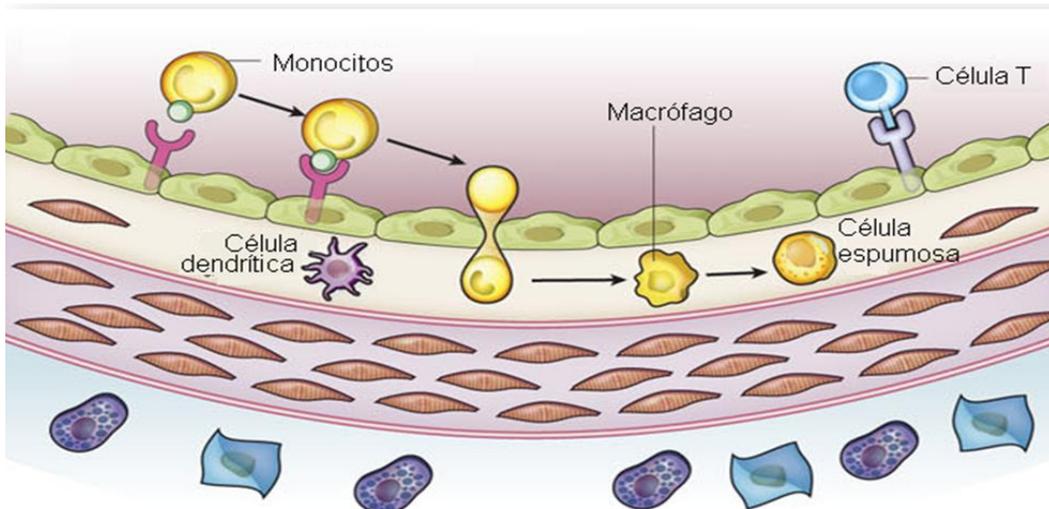


Figura 8. Pasos iniciales de la aterosclerosis. Activación de las células endoteliales, seguida de la migración de monocitos a la íntima y su diferenciación a macrófagos, así como la absorción de lípidos, produciendo células espumosas. Tomado y modificado de Lo J. y Plutzky J. The biology of atherosclerosis: General paradigms and distinct pathogenic Mechanisms Among HIV-Infected Patients¹⁸.

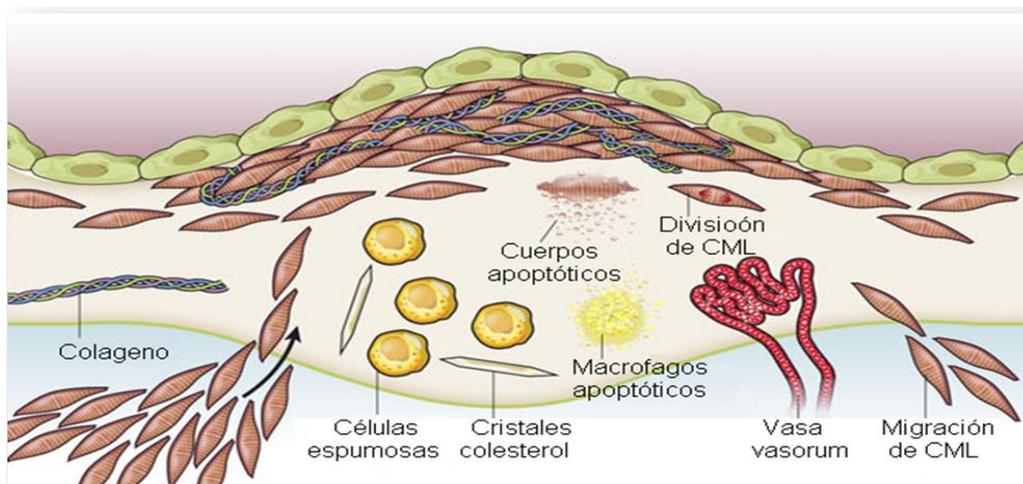


Figura 9. Progreso de la lesión aterosclerótica.

Migración de las CML a la íntima, apoptosis de los macrófagos, seguida de la formación de un núcleo lipídico. Tomado y modificado de Lo J. y Plutzky J. The biology of atherosclerosis: General paradigms and distinct pathogenic Mechanisms Among HIV-Infected Patients¹⁸.

Las células espumosas conducen a la formación de estrías grasas en la pared del vaso provocando cambios macroscópicos en la túnica íntima del vaso, lo cual provoca la formación de un núcleo lipídico cubierto por una capa de tejido conectivo (capsula fibrosa)¹⁹⁻²³ formando así la placa aterosclerótica. La presencia de macrófagos y células T promueven la liberación de enzimas degradantes de la matriz extracelular conocidas

como metaloproteasas (MMPs), las cuales tienen la capacidad de degradar la capa fibrosa, resultando en la desestabilización y ruptura de la placa, vertiéndose el contenido lipídico en la luz del vaso, y desencadenando así la actividad de varios factores de coagulación, los cuales favorecen la formación de un trombo y por ende la oclusión del vaso (Figura 10)¹⁸.

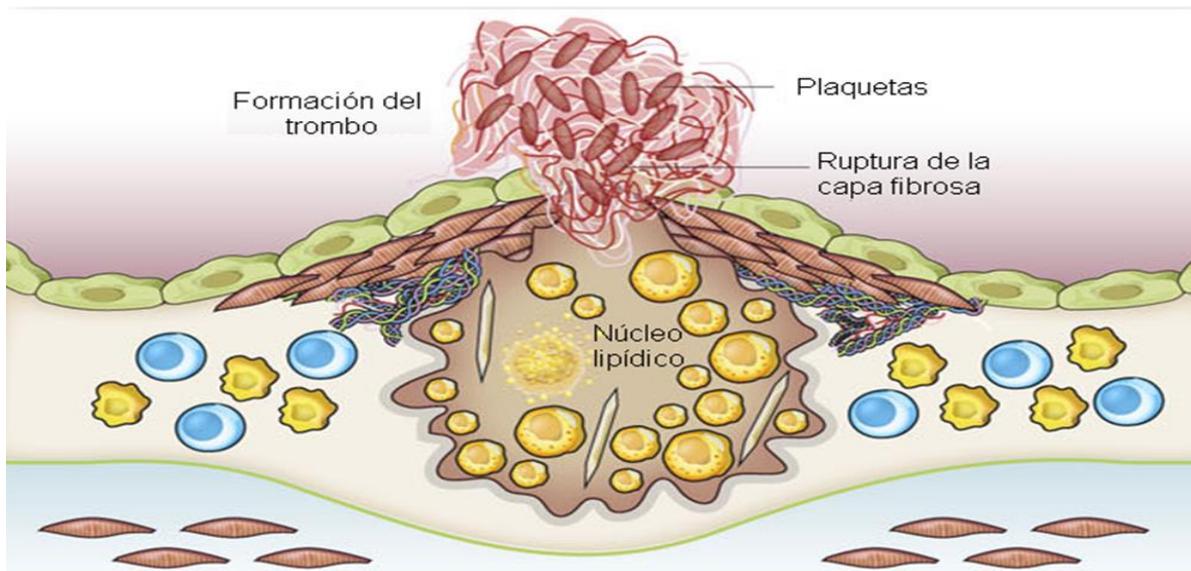


Figura 10. Ruptura de la Placa aterosclerótica.

Fractura de la capa fibrosa de la placa, provocando la formación de un trombo que se extiende dentro de la luz del vaso. Tomado y modificado de Lo J. y Plutzky J. *The biology of atherosclerosis: General paradigms and distinct pathogenic Mechanisms Among HIV-Infected Patients*¹⁸.

Las placas ateroscleróticas se componen principalmente de matriz extracelular, lípidos (colesterol cristalino, ésteres de colesterol, fosfolípidos), células inflamatorias (macrófagos derivados de monocitos y linfocitos T), CML y depósitos de calcio entre otros^{10,20}.

El crecimiento de las lesiones ateroscleróticas se debe principalmente a la acumulación de lípidos, mientras que la progresión es el resultado de la proliferación de células del músculo liso y acumulación de tejido conectivo²⁴.

La vulnerabilidad de la placa depende de la proporción del contenido, tipo de capa fibrosa, tamaño de placa, tensión física a la que está sometida la pared, característica del flujo sanguíneo y por ende de la ubicación^{10,20}.

Solo el 30 % del total de placas ateroscleróticas son totalmente fibróticas, las cuales son menos susceptibles a la ruptura debido a la presencia de una menor proporción de macrófagos, por lo general tienden a llegar a la calcificación¹⁹, el crecimiento de la placa rara vez concluye en la obstrucción del vaso debido a que los vasos sanguíneos tienen la capacidad de adaptarse para mantener el tamaño del lumen y por lo tanto, el suministro de sangre²¹, por otra parte, las placas que contienen una fina capa fibrosa, un gran núcleo lipídico y un alto contenido de macrófagos son consideradas vulnerables^{10,20}, ya que los macrófagos que sufren apoptosis promueven la liberación de metaloproteasas, las cuales son capaces de degradar la matriz extracelular (MEC) debilitando la capa fibrosa y ocasionado su ruptura^{19,21}, los lugares más comunes donde se produce dicha ruptura, son las regiones laterales donde hay una mayor acumulación de macrófagos acompañado por la pérdida local de tejido conectivo, y es aquí donde se ha encontrado una mayor expresión de MMPs²⁴; cuando la ruptura se lleva a cabo por fuerza física se le conoce como ruptura pasiva^{19,21}.

2.7.2 Matriz extracelular

La matriz extracelular (MEC) es una malla tridimensional que se localiza entre y alrededor de las células, proporcionando sostén mecánico, arquitectura, y función a los tejidos, a consecuencia de la adhesión célula-célula y célula-matriz^{25,26}; debido a su localización se ve asociada con actividades de conexión física, transmisión de mensajes químicos y depósito de moléculas de señalización²⁷; la MEC es la encargada de regular casi todo el comportamiento celular^{25,26}.

Las propiedades de la MEC son específicas dependiendo de la función del tejido, estas propiedades no son independientes por lo cual si una se altera a causa de alguna patología, el resto de sus propiedades bioquímicas se ven influenciadas, por ejemplo cuando aumenta la rigidez de la MEC bajo condiciones patológicas sus propiedades

biomecánicas cambian, donde, la migración celular se ve modificada y las células responden ejerciendo diferentes tipos de fuerza²⁸.

Las propiedades de la MEC se ven modificada por acción de las células, quienes a su vez sufren alteración por acción de la MEC alterada, a este fenómeno se le conoce como “feedback”, lo cual indica que existe una reciprocidad²⁸.

La MEC consta de un proceso de remodelación constante dependiendo de las características necesarias del tejido, lo cual se logra a través de mecanismos que modulan la expresión y función de enzimas, cuando esto no funcionan adecuadamente la MEC se ve afectada ocasionando diversos efectos en el tejido generando problemas patológicos²⁸.

La composición de la MEC es bastante compleja, está altamente regulada y es específica del sitio anatómico y de su funcionalidad²⁵⁻²⁸, dependiendo la composición se presentan características diferentes como: diversidad estructural; versatilidad funcional (dependiendo del tipo de tejido, la matriz debe componerse específicamente para brindar el correcto funcionamiento, como es el caso de los vasos sanguíneos donde la matriz debe de ser fuerte para resistir la fricción pero también debe de ser flexible para evitar la ruptura del vaso); propiedades bioquímicas específicas (capacidad indirecta y directa de señalización, permitiendo a la célula interactuar con su entorno y regularlo); y biomecánicas (elasticidad; que puede contribuir al desarrollo de la enfermedad, ya que ayuda a determinar como una célula detecta y percibe la fuerza externa proporcionando señales que determinen el comportamiento celular)²⁸.

Se han definido un total de 357 proteínas que constituyen la MEC, así como 524 productos de genes funcionales relacionados con está²⁵. A continuación se describen los principales componentes de la MEC, su función y clasificación^{25,27,29}.

- Proteínas estructurales (colágeno, reticulina, elastina). El colágeno esta asociado con la capacidad de resistir a la fuerzas de tensión, es la principal proteína extracelular, mientras que la elastina forma fibras y láminas en sitios sujetos a estiramientos como es el caso de los vasos sanguíneos, ya que proporciona elasticidad al tejido.
- Proteínas de adhesión (fibronectina y laminina). La fibronectina predomina en el tejido conjuntivo mientras que la laminina en la membrana basal, ambas son las encargadas de la composición y arquitectura de los tejidos.
- Proteoglicanos y glucosaminoglucanos: Son glicoproteínas encargados de mantener hidratado el tejido, integran la sustancia amorfa, junto con moléculas hidrófilas, intervienen en la resistencia a la compresión mecánica y facilitan el transporte de moléculas solubles así como la movilización celular.

2.7.3 Metaloproteasas

Como se mencionó anteriormente la MEC necesita remodelarse constantemente para satisfacer las necesidades fisiológicas de los tejidos, lo cual se lleva a cabo con la eliminación de uno o más de sus componentes; para ello cuenta con enzimas de degradación como desintegrinas y metaloproteasas (MMPs) siendo estas últimas las más importantes^{28,30}.

Las metaloproteasas son una familia de endopeptidasas que actúan a pH neutro y son dependientes de zinc; también llamadas matrixinas, pertenecen a la superfamilia de proteasas llamadas “metzininas”, pueden ser producidas por células endoteliales, CML y fibroblastos^{25,31-35}.

Las MMPs participan en todos los procesos fisiológicos que implican remodelación tisular, como es el caso del desarrollo embrionario, la migración celular, la morfogénesis de huesos, el ciclo menstrual, la evolución de una herida entre otros; sin embargo, la no regulación o activación de la expresión de MMPs es una característica de numerosas

patologías, como metástasis tumoral, daño vascular, ciertas enfermedades reumáticas, destrucción de la pared alveolar en enfermedad pulmonar obstructiva crónica y problemas cardíacos dentro de los cuales se puede citar la ruptura de placas ateroscleróticas^{36,37}.

Aunque la primer función estudiada de las MMPs fue la remodelación de la MEC, actualmente se considera que cumplen un papel importante en el procesamiento de moléculas bioactivas como factor de crecimiento, citoquinas y quimiocinas; facilitan la migración de células epiteliales, que intervienen en la remodelación de los tejidos durante la cicatrización de heridas; influyen en la migración, la proliferación y apoptosis del músculo liso vascular y de células endoteliales³⁶.

La primer metaloproteasa (MMP-1) fue descubierta en 1962 por Gross y Lapierre quienes demostraron la existencia de enzimas capaces de degradar geles de colágeno fibrilar, asociadas con la metamorfosis del renacuajo³¹. Actualmente, se han descubierto más de 66 MMPs³¹, de las cuales alrededor de 28 MMPs son humanas³³, donde solo 14 están caracterizadas en tejido vasculares²⁴, estas MMPs humanas tienen una homología de un 30 al 50%³⁶, difiriendo en características estructurales y su especificidad de sustrato, la especificidad del sustrato no es absoluta si no gradual³², y su acción combinada es capaz de conducir a la degradación total de los componentes macromoleculares de la MEC³⁸.

Las MMPs estructuralmente presentan una serie de dominios (Figura 11)^{24,32,36,39,40}.

1. Péptido señal, el cual es necesario para que la enzima pueda desplazarse hasta la membrana, éste se elimina después de la secreción de la proteasa.
2. Propéptido o prodominio, contiene una cisterna presente en la secuencia que interactúa con el dominio catalítico.
3. Dominio catalítico carboxiterminal, forma una pequeña hendidura que alberga al zinc (Zn^{+2}).
4. Dominio hemopexina; se conecta con el dominio catalítico por una bisagra (las MMP-7, -26 no lo poseen).

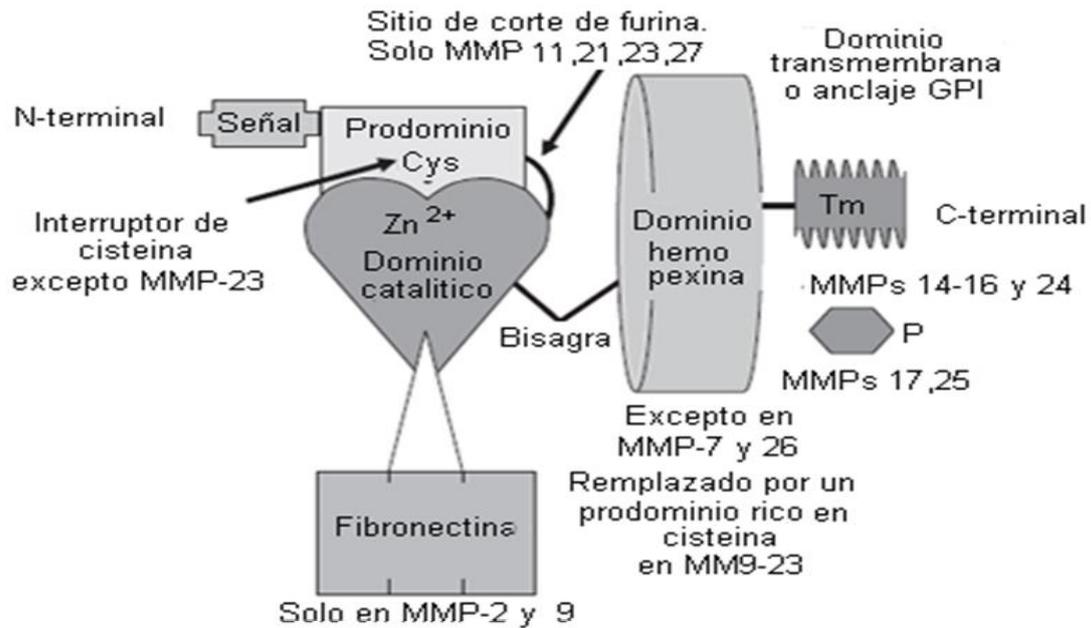


Figura 11. Estructura general de las MMPs. Se clasifican generalmente de acuerdo con los sustratos que degradan y poseen características estructurales comunes. Tomado y modificado de Newby AC. Dual role of matrix metalloproteinases (Matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture²⁴.

Las MMPs se clasifican con base en sus diferencias estructurales en: colagenasas, gelatinasas, estromelinas, metaloproteasas asociadas a membrana (MT-MMP), en el Cuadro 1 se muestra la clasificación de las MMPs, así como sus activadores y sustratos^{30,33,36,38,39}.

Las MMPs están reguladas por factores endógenos y exógenos; como la transcripción de genes, la activación de pro-enzimas, la interacción con inhibidores y la internalización por endocitosis, de manera que las MMPs se producen en momentos específicos^{24,30,33,38}, su expresión varía entre los diferentes estados fisiológicos y patológicos³²; se cree que para la mayoría de las MMPs el paso clave en la regulación es a nivel transcripcional³¹.

Los macrófagos y linfocitos T provocan sobre expresión de MMP-2, -3, -7 Y -9 debido a la liberación de citocinas pro-inflamatorias como la interleucina-1 y -6, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante- β (TGF- β) y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α)^{32,36}.

Cuadro 1. Metaloproteasas, sus activadores y sus sustratos^{30,39}.

MMP (tipo)	Denominación	Activadores	Sustrato MEC
COLAGENASA			
MMP-1	Colagenasa1	MMP-3, -10, plasmina, calicreina, quimasa	Colágenos I, II, III, VII, VIII y X, gelatina, agrecan, entactina, tenascina, perlecan
MMP-8	Colagenasa-2	MMP-3, -10, plasmina.	Colágeno I, II y II, gelatinasa y agrecan
MMP-13	Colagenasa-13	MMP-2, -14, plasmina, calicreina, quimasa, triptasa	Colágenos I, II, III, IV, IX, X y XIV, agrecan, fibronectina, tenacina, osteonectina, laminina.
GELATINASA			
MMP-2	Gelatinasa A	MMP-1, -7, -13, -14, -15, -16, -24, -25, plasmina.	Gelatina, colágenos I, IV, V, VII y X, fibronectina, laminina, elastina agrecan.
MMP-9	Gelatinasa B	MMP-2, -3, -10, -13, plasmina.	Gelatina, colágenos III, IV y V, agrecan, elastina, entactina, vitronectina.
ESTROMALISINA			
MMP-3	Estromalisina-1	Plasmina, calicreina, quimasa, triptasa	Agrecan, decorina, gelatina, fibronectina, laminina, colágenos III, IV, V y IX, tenacina, perlecan.
MMP-10	Estromalisina-2	Plasmina, calicreina, quimasa, triptasa	Agrecan, fibronectina, laminina, colágenos III, IV y V.
MMP-11	Estromalisina-3	Furina, plasmina	Fibronectina, laminina, agrecan, gelatina,
TIPO MEMBRANA			
MMP-14	MT1- MMP	Furina.	Colágenos I, II y III, gelatina, agrecan, fibronectina, laminina, fibrina.
MMP-15	MT2- MMP	Furina.	Fibronectina, laminina, tenacina, nidogen, agrecan, perlecan
MMP-16	MT3- MMP	Furina.	Colágeno III, fibronectina, gelatina
MMP-17	MT4- MMP	Furina.	Gelatina, fibrinógeno
MMP-24	MT5- MMP	Furina.	Fibrina, gelatina
MMP-25	MT6- MMP	Furina.	Gelatina, colágeno IV, fibrina, fibronectina y laminina
OTROS			
MMP-7	Matrilisina-1	MMP-3, -10, plasmina.	Agrecan, gelatina, fibronectina, laminina, elastina, entactina, colágeno IV, tenacina, decorina
MMP-26	Matrilisina-2	n.d.	Gelatina, colágeno IV, fibronectina, fibrinógeno, vitronectina
MMP-12	Metaloelastasa	n.d.	Elastina, agrecan, fibronectina, osteonectina, laminina, nidogen.
MMP-20	Enamelisina	-	Agrecan, amelogenina
MMP-21	XMMP	n.d.	n.d.
MMP-27	n.d.	n.d.	n.d.

MMP: metaloproteasa; MEC: matriz extracelular; MT-MMP: metaloproteasa asociada a membrana; n.d: no determinado.

La mayoría de las MMPs se sintetizan como pre-proenzimas latentes que necesitan ser activados, (excepto MMP- 11 que se libera como enzima activa)³², una vez eliminado el péptido señal se generan proMMPs, y su activación implica el desprendimiento del dominio hemopexina causado por otras MMPs, estrés oxidativo y por oxidantes generado por leucocitos u otras células^{30,32,34,38,41}; pueden ser activadas *in vitro* por tratamiento con compuestos organomercúricos, urea, reactivos SH y agentes caotrópicos que modifican la pro MMP químicamente^{37,39}.

La actividad de las MMPs puede ser bloqueada por dos principales inhibidores endógenos: los inhibidores tisulares de metaloproteasas (TIMP, por sus siglas en inglés), principal inhibidor presente en los tejidos y la α 2-macroglobulina presente en suero^{32,41}.

- Los TIMPs son proteínas multifactoriales de entre 21-30 kDa³⁴, descubiertas en 1971 por Harper y Bloch³⁶; tienen como función impedir la actividad de las MMPs, presentan alta afinidad con las proenzimas, por lo cual se unen de manera similar a como lo hace el sustrato, quelando el Zn^{2+} , formando un enlace no covalente y reversible, el enlace tiene estequiometría (1:1)^{30,32,33,36}.

Existen 4 tipos de TIMPs en los seres humanos: TIMP-1 y -3 que son glicoproteínas y TIMP- 2 y -4 que no contiene carbohidratos^{30,31,33,36,39}. Estas proteínas juegan un papel importante en la regulación de muchos eventos biológicos a través de su capacidad para mediar las MMPs y se ha demostrado que inhiben la migración de células endoteliales y la invasión de células del músculo liso³⁹. Un desequilibrio entre las MMPs y TIMPs podría causar aumentos en la actividad de las MMPs, ocasionando cambios en la estructura de la MEC³⁸.

- La α 2-macroglobulina, es una glicoproteína que se encuentra presente en la sangre y en los fluidos de los tejidos, actúa como inhibidor irreversible de las MMPs, ya que se une a ellas covalentemente bloqueando su actividad^{30,33}.

La actividad de las MMPs también puede ser inhibida por agentes quelantes, ya que privan a la MMPs del Zn^{2+} , catión necesario para presentar actividad enzimática^{33,41}.

2.7.4 MMPs y la ruptura de la placa aterosclerótica

Debido a su gran importancia en la remodelación vascular, se cree que las MMPs juegan un papel importante en la patogénesis de la enfermedades cardiovasculares, tales como aterosclerosis seguida de IAM, enfermedad isquémica, reestenosis, entre otros^{42,43}.

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria que afecta las arterias, es caracterizada por la formación de la placa aterosclerótica y engrosamiento de la pared arterial debido a la acumulación de macrófagos, lipoproteínas de baja densidad, proteínas plasmáticas de transporte de colesterol y triglicéridos⁴¹, células espumosas derivadas de macrófagos³⁸; además de esto, se ha detectado un aumento en la expresión de metaloproteasas^{32,38}, correlacionándolas fuertemente con la fisiopatología del IAM, se cree que MMPs como la 3 y 9 desempeñan funciones de protección limitando el crecimiento de la placa, promoviendo así un fenotipo de placa inestable^{32,38}.

Las MMPs desempeñan un papel importante en el IAM ocasionado por ruptura de la placa aterosclerótica, por lo cual se cree puede representar una diana terapéutica, o bien, podría funcionar como biomarcador genético³⁸.

2.8 MMP-9

La MMP-9 (gelatinasa-B, gelatinasa de 97 KD, gelatinasa del macrófago y colagenasa del tipo V)^{35,44-46}; posee una estructura basada en: un péptido señal, pro-péptido, dominio catalítico que sirve de puente a la región hemopexina y una región con tres dominios de fibronectina tipo II; la región hemopexina determina la especificidad de la MMP-9 (Figura 12)^{35,40,44-46}.

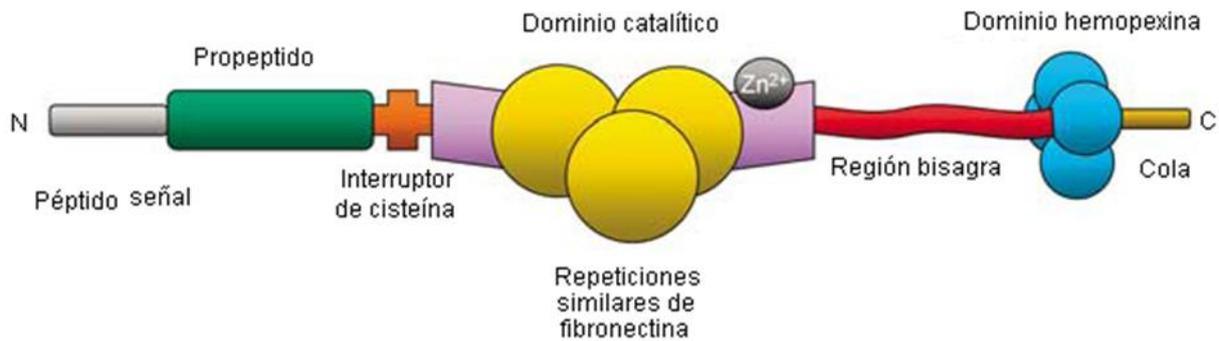


Figura 12. Estructura de la MMP-9.

Tomado y modificado de Chow A., Cena J. y Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature⁴⁰.

La MMP-9 está implicada en la degradación de un amplio espectro de sustratos, los cuales incluyen gelatina (colágeno desnaturalizado que ha perdido la triple hélice), proteoglicanos, elastina y colágeno tipo IV, V, VII y X^{35,44-46}; estos sustratos desempeñan un papel importante en la formación y estabilidad de las placas ateroscleróticas⁴⁷, además de la degradación de estos componentes se ha encontrado que esta enzima facilita la migración de células del músculo liso vascular^{46,48}. La MMP-9 no se encuentra en gran cantidad en tejido sano, ya que se encuentra limitada a monocitos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos T y B^{33,34,38,40}.

La pro-MMP-9 puede ser activada por acción de óxido nítrico, especies reactivas de oxígeno liberados por macrófagos^{24,33,43}, otras MMPs como la MMP-2, pero principalmente están regulada a nivel transcripcional, donde el promotor del gen responde a diferentes reguladores como la IL-1, PDGF, EGF y TNF- α ⁴⁶.

El gen que codifica para la MMP-9 consta de 13 exones y 12 intrones, se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 20 entre las regiones 20q11.2-q13.1, su tamaño es de 7.65 kb (Figura 13)⁴⁹⁻⁵¹.

La MMP-9 puede ser inhibida de forma muy eficiente por la α 2-macroglobulina y los TIMPs 1, 3 y 4, actualmente existen diversos inhibidores sintéticos que están siendo probados en el tratamiento de múltiples patologías³².

La MMP-9 se ha encontrado aumentada en enfermedades autoinmunes, como lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, esclerosis múltiple, enfermedad periodontal, así como, en cáncer incluyendo la invasión, metástasis, angiogénesis y proliferación celular²³, además de enfermedades cardiovasculares como aterosclerosis, ruptura de la placa, IAM, y enfermedad arterial coronaria^{24,41,42,44-48,52}.

De todas las MMPs descritas en el Cuadro 1, la MMP-9 desempeña un papel importante en la degradación de la matriz extracelular y posterior ruptura de la placa aterosclerótica, debido a su amplia especificidad de sustrato⁴⁴; se ha demostrado un incremento en la expresión y en la presencia de síntesis activa de MMP-9, así como macrófagos en las placas vulnerables^{34,41} y niveles mayores de esta enzima se han encontrado en pacientes con colesterol-LDL elevado y con placa vulnerable³⁴; estudios han demostrado que la MMP-9 se encuentra en mayor concentración en lesiones de pacientes con angina inestable, pero no con angina estable; lo cual sugiere que esta enzima podría desempeñar un papel importante en la ruptura de la placa aterosclerótica^{34,42,44-46-52}.

Estudios en diferentes poblaciones^{43,44,48,52-54}, han descrito la presencia de un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) en la región promotora del gen de la MMP-9 con un cambio de citosina (C) por timina (T) en la posición -1562; de acuerdo con ensayos *in vitro* se ha establecido que el alelo T presenta una actividad promotora más alta que el alelo C, lo cual se asocia a una elevación en los niveles plasmáticos de la MMP-9^{35,43,45,48,53}, y por ende, una mayor susceptibilidad a padecer IAM, enfermedades inflamatorias, cáncer, artritis reumatoide, fibrosis del hígado, enfermedad periodontal y gravedad de la aterosclerosis coronaria^{31,44,43,47,52}.

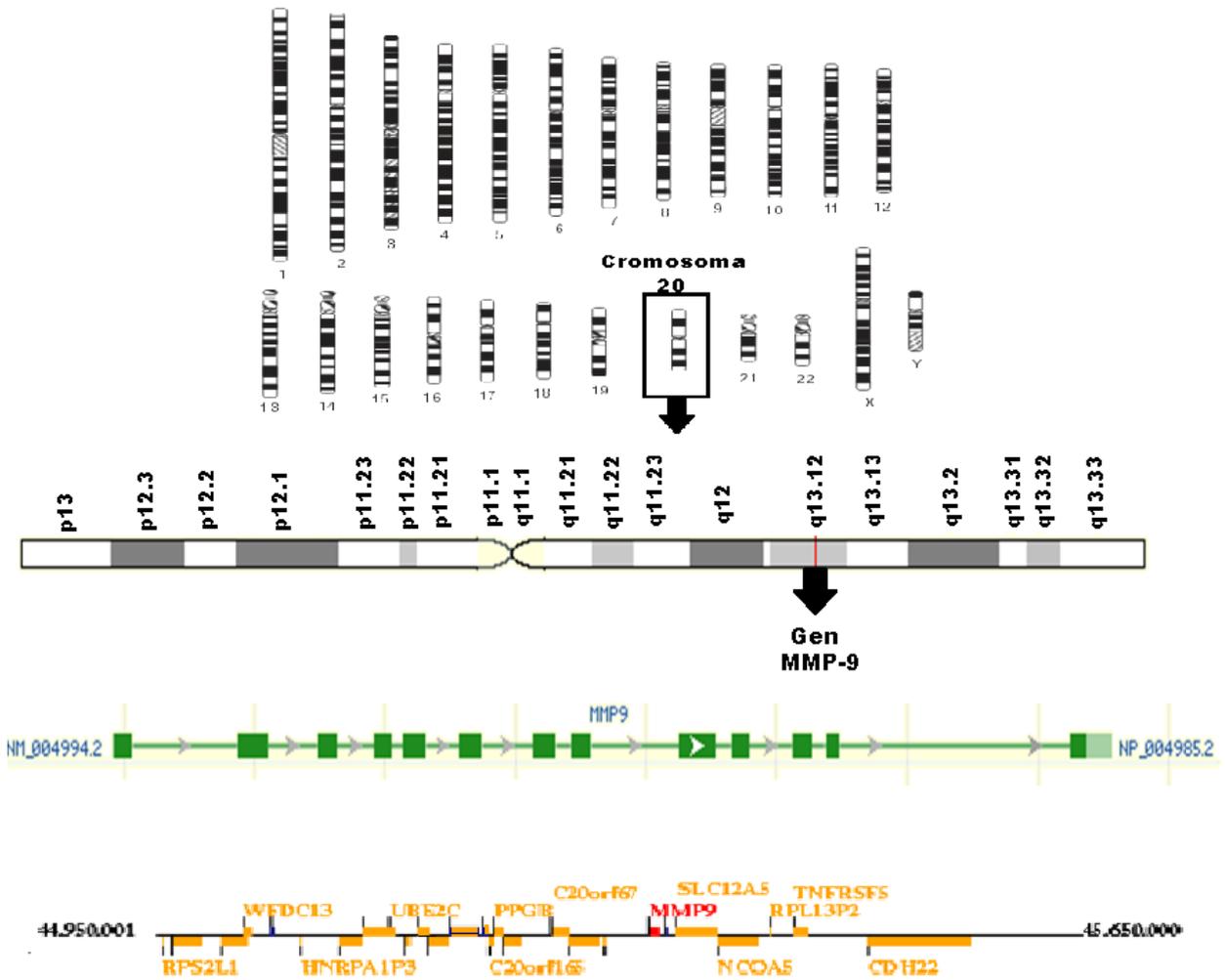


Figura 13. Cromosoma 20 y estructura del gen de la MMP-9. Tomado y modificado de OMIN⁴⁹ Gene Cards⁵⁰ y Gen Alas⁵¹.

3. Planteamiento del problema

El polimorfismo -1562 C/T en el gen de la Metaloproteasa 9 se ha asociado con Infarto al Miocardio en poblaciones diferentes a la mexicana, debido a su actividad enzimática que degrada gelatina, elastina, colágeno tipo III, IV y V, entre otros componentes de la matriz extracelular, afectando así la estabilidad de la capa fibrosa de la placa aterosclerótica haciéndola vulnerable a la ruptura seguida de la formación de un trombo y finalmente la presencia del evento isquémico; esto aunado a que las enfermedades cardiacas son la principal causa de mortalidad en México, por lo que es necesario realizar un estudio que nos indique si ¿Existe o no asociación entre el polimorfismo -1562 C/T que codifica para la MMP-9 y la ruptura de la placa aterosclerótica y un subsecuente IAM en pacientes mexicanos?, con la finalidad de contribuir a la investigación y prevención de este padecimiento.

4. Hipótesis

Si el polimorfismo -1562 C/T en el gen de la metaloproteasa 9 está relacionado con la susceptibilidad a presentar IAM causado por la ruptura de la placa aterosclerótica, entonces, al determinar dicho polimorfismo, se podrá diferenciar a pacientes que han sufrido IAM, de los individuos control.

5. Objetivos

Determinar la presencia de susceptibilidad o protección genética asociada al polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 en pacientes mexicanos que presentaron IAM, en comparación del grupo control.

5.1 Objetivos particulares

- Determinar los genotipos y alelos del polimorfismo -1562 C/T en el gen de la metaloproteasa 9 en el grupo de pacientes mexicanos con infarto de miocardio que ingresaron al INC "Ignacio Chávez" y en el grupo control.
- Definir si el polimorfismo -1562 C/T en el gen de la metaloproteasa 9 pudiera estar confiriendo susceptibilidad o protección para el desarrollo de este padecimiento en la población mexicana.

6. Material y métodos

6.1 Diseño del estudio

6.1.1 Tipo de estudio

Casos y controles

Clínico experimental

Prospectivo

6.1.2 Población de estudio

Casos: 255 individuos mexicanos, no relacionados entre sí, que ingresen al Departamento de Urgencias y Unidad Coronaria del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez con diagnóstico de infarto al miocardio.

Controles: 299 individuos mexicanos, no relacionados entre sí y que no tenga parentesco con los pacientes incluidos en el estudio, sin antecedentes de enfermedad cardiovascular previa. Para ser considerado sano, el individuo no presentó sintomatología asociada a IAM.

6.1.3 Criterios de selección

Criterios de selección para los controles.

Inclusión

- Hombres y mujeres mexicanos mayores de 35 años, con dos generaciones previas nacidas en México, con consentimiento informado firmado.
- Sin antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular.
- Presentar un electrocardiograma normal.
- Presentar estudios de laboratorio.

Exclusión

- Individuos con enfermedades cerebro vasculares, como isquemia cerebral transitoria o cualquier indicio de daño estructural del sistema nervioso central, aneurisma o malformación arteriovenosa.

Criterios de selección para los casos.

Inclusión.

- Hombres y mujeres mexicanos mayores de 35 años, con dos generaciones previas nacidas en México, con consentimiento informado firmado.
- Que el motivo de ingreso al instituto sea infarto agudo de miocardio manifestado por:
 - a. Síntomas de dolor tipo anginoso (opresivo) localizado en el tórax, el cual se irradia hacia la base del cuello, la mandíbula o hacia las extremidades superiores con una duración de más de 30 minutos y que se acompañe de síntomas neurovegetativos (sudoración, sensación de náuseas o vómito, sensación o acción de micción y defecación o ambas).
 - b. Cambios electrocardiográficos consistentes con infarto agudo de miocardio: Elevación del segmento ST de ≥ 0.1 mV en dos o más de las derivaciones contiguas electrocardiográficas.
- Presentar estudios de laboratorio.

Exclusión

- Dolor torácico ocasionado por otras causas: disección aórtica, pericarditis, valvulopatías, traumatismo.
- Pacientes con enfermedades cerebro vasculares, como isquemia cerebral transitoria o cualquier indicio de daño estructural del sistema nervioso central, aneurisma o malformación arteriovenosa.

6.1.4 Variables

Dependientes:

- Polimorfismo en gen de la MMP-9

Independientes:

- Sujetos que presentaron IAM
- Sujetos que no presentaron sintomatología de IM.

Intervinientes:

- Edad y género
- Parámetros antropométricos
- Variables clínico-demográficas

6.2 Método

6.2.1 Extracción de ADN

Partiendo de 5 mL de sangre periférica tomada en tubos Vacutainer® con EDTA, se separó y eliminó el plasma por medio de centrifugación (3000 rpm durante 10 minutos); con la finalidad de lisar los glóbulos rojos (GR), a los elementos formes se les adicionó 20 mL de TKM-1 (10 mM tris-HCL, pH 7.6; 10 mM KCl; 10 mM MgCl₂; 2 mM EDTA), se mezcló durante 10 minutos con el equipo Orbitron Rotor II y se centrifugó (3000 rpm durante 10 minutos), el sobrenadante se desechó (si después del lavado se observa la presencia de GR, realizar un lavado extra con 15 ml con TKM-1 a 3000 rpm durante 5 minutos); posteriormente se adicionó 800 µl de TKM-II (10 mM tris-HCL, pH 7.6; 10 mM KCl; 10 mM MgCl₂; 0.4 M NaCl; 2 mM EDTA) y 50 µL de SDS al 10%, la mezcla se homogenizó y se incubó a 55°C durante 10 minutos, con lo cual se causó la lisis de los leucocitos; para eliminar las proteínas presentes en la muestra, se realizó la técnica de salting-out, por lo cual se adicionó 300 µL de NaCl 5M y se centrifugó (200 rpm a 12°C

durante 5 minutos), el precipitado se eliminó y el sobrenadante se colocó en un nuevo tubo con 900 μ L de etanol al 100%, se mezcló por inmersión y se centrifugó (14000 rpm a 4°C durante 5 minutos) se observó la precipitación del botón de ADN, lo cual se debe a la baja solubilidad de la molécula en alcohol, el botón se lavó con 900 μ L de etanol al 70% frío, finalmente, se eliminó el etanol y al sedimento se le adicionó 150 μ L de solución buffer TE, mezcla que se incubó a 65°C por 20 min, después de esto el ADN se almacenó en refrigeración.

6.2.2 Cuantificación de ADN

Empleando espectrofotometría UV con el equipo NanoDrop® Spectrophotometer ND-1000, se cuantificó el ADN a una longitud de onda (λ) de 260nm. Se colocó una alícuota de 1.5 μ L de solución buffer TE (blanco) para ajustar a cero, posteriormente se colocó 1.5 μ L de ADN de cada una de las muestras, el equipo proporcionó como resultado la concentración y pureza, empleando el cociente A_{260}/A_{280} , y con base en la concentración del ADN se realizaron alícuotas de 10 μ g/mL de ADN. La integridad se verificó empleando electroforesis en gel de agarosa al 1.5% teñido con 0.5 μ L de bromuro de etidio (agente intercalante fluorescente), técnica empleada para separar macromoléculas en función del tamaño, carga eléctrica y otras propiedades físicas empleando una corriente eléctrica; se colocó 1 μ L del ADN extraído y 1 μ L de colorante en cada pocillo del gel, el cual se corrió a 65voltios durante 45minutos en solución buffer TBE, finalmente, se observaron las bandas de ADN empleando un Transiluminador UV.

6.2.3 PCR-RFLP

Para replicar el fragmento específico de ADN donde se encuentra el polimorfismo -1562 del gen de la MMP-9, se realizó la técnica Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) en punto final empleando el termociclador automatizado, (Applied Biosystems, EE.UU.), para lo cual se colocó la mezcla de los componentes descritos en el

Cuadro 2 en cada tubo para PCR , una vez cerrados perfectamente se colocaron en el termociclador, el cual se programó para realizar 32 ciclos de tres fases cada uno: la primera es la fase de desnaturalización de la doble hélice del ADN, (94°C durante 5 minutos); seguido de la fase de alineamiento, (66°C por 6 minutos); y finalmente, la fase de extensión (72°C por 6 minutos).

Cuadro 2. Condiciones empleadas durante la PCR-punto final.

Componentes	Cantidad por tubo
Agua	11 µL
Buffer	2.5 µL
DNTPs	4 µL
Primer forward [20pmol] ⁵⁵ GCC TGG CAC ATA GTA GGC CC	1.5 µL
Primer reverse [20pmol] ⁵⁵ CTT CCT AGC CAG CCG GCA TC	1.5 µL
MgCl ₂	1.5µL
DMSO	1 mL
Taq polimerasa	0.125 µL
ADN (10 µg/mL)	2 µL

El amplificado obtenido de la PCR, se verificó con electroforesis en un gel de agarosa al 1.5% (Figura 14), para lo cual, en un pocillo del gel se colocó el marcador de peso molecular (1 µL de marcador de 100 pb y 1 µL del colorante), y en el resto los amplificados (1µL de colorante y 2 µL de amplificado); el gel se colocó en una cámara de electroforesis durante 45 minutos a 65 voltios y se verificó empleando un Transiluminador UV.

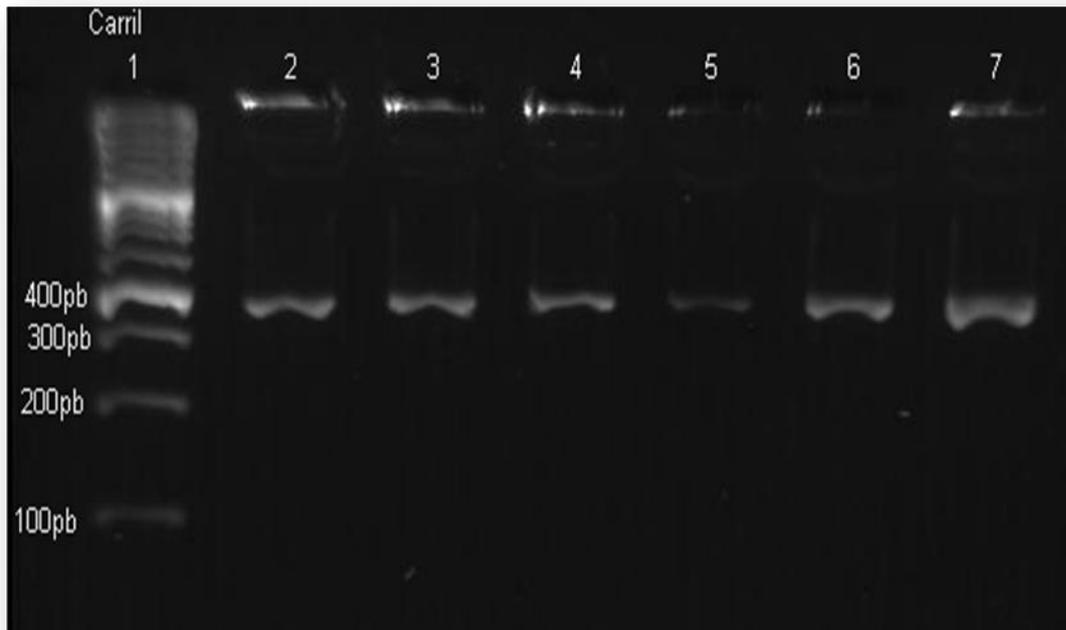


Figura 14. Amplificados obtenidos de PCR en punto final.
Carril 1: Marcador de peso molecular de 100pb (Qiagen, EE.UU);
Carriles 2-7: amplificado de ADN.

Una vez comprobada la presencia del amplificado de ADN, se realizó una digestión enzimática, con la endonucleasa de restricción *SphI* (New England Biolabs, Ipswich, MA, EE.U), proteína que reconoce la secuencia $5' \text{ G C A T G } \downarrow \text{ C } 3'$ en el Cuadro 3 se describen los componentes empleados durante la digestión, todas las muestras se incubaron por 16 horas a 37C.

Cuadro 3. Condiciones empleadas en la digestión enzimática.

Componentes	Cantidad
Amplificado	8 mL
Buffer	1 μ L
Enzima de restricción	1 μ L

Finalmente, se realizó la tipificación de los polimorfismos (Figura 15), empleando una electroforesis en gel de agarosa al 4% teñido con bromuro de etidio empleando 32 voltios durante 4 horas; el aumento en la concentración de agarosa y la disminución en la potencia se realizó con la finalidad de mejorar la separación de los diferentes fragmentos

formados por la enzima de restricción; cada gel se verificó empleando el Transiluminador UV, y se realizó el conteo de los genotipos diferenciados por el tamaño de los fragmentos obtenidos, los cuales se muestran a continuación.

Alelo de No corte (Homocigoto CC): Tamaño de 435 pb.

Alelo de Corte (Homocigoto TT): Tamaño de 188 pb.

Heterocigoto: Tamaño de 435, 247, 188 pb.

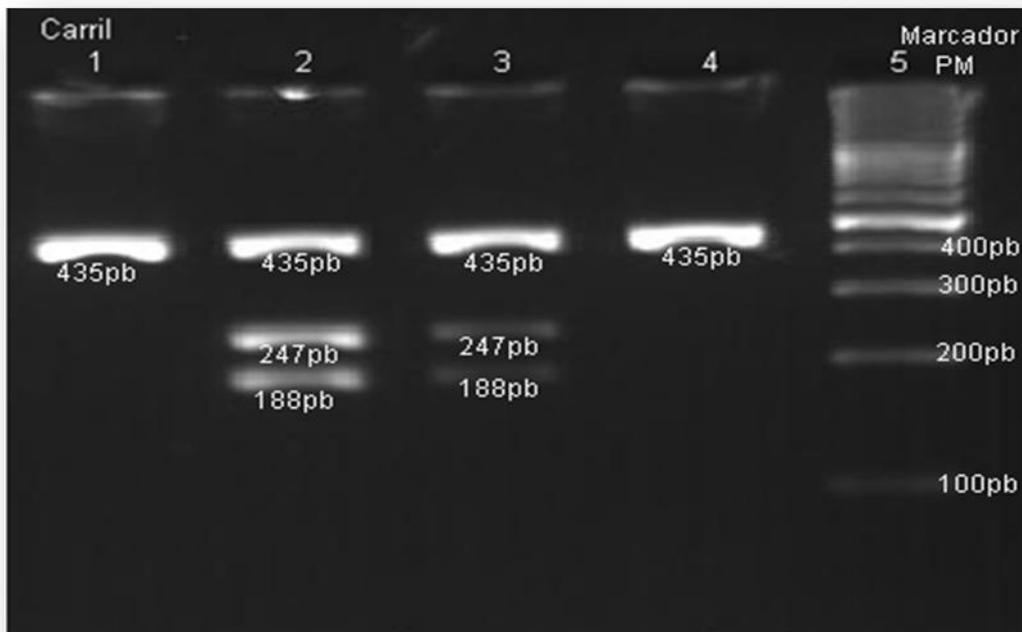


Figura 15. Análisis por PCR-RFLP del polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9.
Carril 1 y 4: Genotipo C/C, Carril 2 y 3: Genotipo C/T
Carril 5: Marcador de peso molecular (PM) de 100pb (Qiagen, EE.UU)

6.3 Diseño estadístico

Los datos se describieron estadísticamente en términos de media \pm desviación estándar, rango, frecuencias y porcentajes. Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos se obtuvieron por conteo directo. Se evaluó el equilibrio de Hardy - Weinberg por medio de la prueba de chi-cuadrada (X^2). La diferencia entre grupos fue determinada mediante el análisis de X^2 de Mantel Hanzel, se utilizó la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario. Se analizaron las variables demográficas entre ambos

grupos de estudio con el programa informático Stata versión 11.1 para Microsoft Windows. La comparación de variables numéricas entre los casos y controles se hizo mediante la prueba U-Mann Whitney, los datos son mostrados como mediana y percentiles 25 y 75. Las variables categóricas se analizaron con X^2 o prueba exacta de Fisher, según fuera el caso y se presentan como frecuencias absolutas y proporciones. El riesgo relativo con intervalo de confianza del 95% (IC) se evaluó como razón de momios (RM). La significancia estadística se fijó en $p < 0.05$.

7. Resultados

Se estudiaron 554 individuos, los cuales se clasificaron en casos (n=255) y controles (n=299). Las características clínico-demográficas de la población, se muestra en el Cuadro 4, donde se observa que las variables; género, IMC, obesidad, padecer diabetes mellitus 2 (DM2), hipertensión, tener el hábito de fumar y tomar alcohol presentaron diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos.

Cuadro 4. Características clínico-demográficas de la población en estudio.

Variables	Controles (n=299)	Casos (n=255)	*p
Edad (años)	58 (55-63)	59 (52-67)	0.353
Género (Hombre% / Mujer%)	46.5% / 53.5%	82.0% / 18.0%	<0.001
IMC (kg/m ²)	28 (25.7-30.5)	26.7 (24.5 – 29.2)	0.001
Obesidad (%)	25.54%	15.4%	0.006
DM 2 (%)	13.4%	42.4%	<0.001
Hipertensión (%)	50.1%	72.6%	<0.001
Dislipidemia	68.6%	64.3%	0.291
Consumo de tabaco (%)	15.7%	67.8%	<0.001
Consumo de alcohol (%)	49.8%	36.5%	0.002

* P se estimó empleando la prueba U-Mann Whitney para variables numéricas y la Prueba de X² o exacta de Fisher para variables categóricas. $p < 0.05$ es estadísticamente significativo.

La distribución del polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg. Dado que la frecuencia del genotipo T/T es muy baja, se agruparon con el genotipo C/T^{44,45,53}, como se muestra en el Cuadro 5, donde podemos observar las frecuencias genotípicas de ambos grupos, donde el genotipo C/C se encuentra en mayor porcentaje en el grupo control (95.3%) y los genotipos C/T + T/T se presentan con mayor frecuencia en los casos (11.8%), lo cual resultó ser estadísticamente significativo ($p=0.002$).

Cuadro 5. Distribución genotípica del polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 en la población de estudio.

rs3918242	Frecuencia genotípica		<i>p</i> *	MAF
	C / C	C/T + T/T		
Controles (n=299)	285 (95.3%)	14 (4.7%)	0.002	0.023
Casos (n=255)	225 (88.2%)	30 (11.8%)		0.059

* *p* se estimó empleando la prueba X^2 de Mantel Hanzel
 $p < 0.05$ es estadísticamente significativo.

Las frecuencias alélicas se muestran en el Cuadro 6, en donde podemos observar que el alelo C se presentó con mayor frecuencia en el grupo control, y por ende, el alelo T se encontró en mayor proporción en el grupo de casos, estos resultados mostraron ser estadísticamente significativos ($p=0.003$).

Cuadro 6. Frecuencias alélicas del polimorfismo -1562 en el gen de la MMP-9 en la población de estudio.

MMP9 -1562 C/T rs3918242	CONTROLES	CASOS	<i>p</i> *	RM (IC 95%)
C	584 (97.7%)	480 (94.1%)	0.003	0.38 (0.19-0.76)
T	14 (2.3%)	30 (5.9%)	0.003	2.61 (1.32-5.23)

* *p* se estimó empleando la prueba X^2 de Mantel Hanzel. $p < 0.05$ es estadísticamente significativo.
 RM. Razón de Momios. IC. Intervalo de confianza.

Finalmente, se analizó estadísticamente los genotipos pertenecientes al grupo de casos con los factores de riesgo asociados al IM, sin embargo no se encontró asociación estadísticamente significativa entre las variables y los genotipos, lo cual sugiere que las variables no son dependientes del genotipo.

Cuadro 7. Relación entre los factores de riesgo con el polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 en el grupo de casos.

Variable	MMP-9 1562 C/T		<i>p</i> *
	CC	CT + TT	
Edad			
≤50 años	51 (22.7%)	5 (16.7%)	0.456
>50 años	174 (77.3%)	25 (83.3%)	
Genero			
Femenino	41 (18.2%)	5 (16.7%)	0.835
Masculino	184 (81.8%)	25 (83.3%)	
Obesidad	34 (15.0 %)	6 (20.0%)	0.621
IMC	27.0 (24.8 -29.3)	25.8 (24.2-28.1)	0.273
Tabaquismo	155 (68.9%)	18 (60.0%)	0.328
Alcoholismo	80 (35.6%)	13 (43.3%)	0.406
Diabetes Mellitus 2	95 (42.2%)	13 (43.3%)	0.908
Hipertensión	160 (71.1%)	25 (83.3%)	0.159
Dislipidemia	148 (65.8%)	16 (53.3%)	0.181

* *p* se estimó empleando la prueba U-Mann Whitney para variables numéricas y la Prueba de X² o exacta de Fisher para variables categóricas. *p*<0.05 es estadísticamente significativo.

8. Discusión

El IM es un trastorno poligénico y multifactorial, donde además de factores ambientales, contribuye la genética¹³. En términos clínicos el IM se ocasiona principalmente por la oclusión de una arteria coronaria causada por la ruptura de la placa aterosclerótica, la formación de ésta se debe principalmente a factores ambientales como lo son la diabetes, hipertensión arterial, dislipidemia, obesidad, sedentarismo y tabaquismo^{1,5,13}; Sin embargo, actualmente se considera que existen factores genéticos, como polimorfismos, que se han asociado a este padecimiento^{43-45,48,52-53}.

La ruptura de la placa aterosclerótica se debe al debilitamiento de la capa fibrosa, ocasionado por la degradación de la MEC, a causa de la presencia de MMPs, en especial la MMP-9 que tiene como sustrato diferentes tipos de colágeno, gelatina, elastina y otros componentes de la MEC presentes en el endotelio; ésta enzima no se encuentra en gran abundancia en tejido sano, ya que se encuentra limitada a la presencia de macrófagos^{33,36,38}, mismos que son atraídos a la arteria por el proceso pro-inflamatorio que se lleva a cabo por la presencia de la placa, ocasionando así, la activación de la MMP-9^{34,43}.

La MMP-9 facilita la remodelación positiva de la pared arterial a través de la digestión de la túnica, minimizando de este modo la invasión ocasionada por la presencia de la placa³³, sin embargo, esto debilita la placa aterosclerótica ocasionando una mayor susceptibilidad a la ruptura, una vez ocurrido este evento se da la formación de un trombo seguido por la oclusión arterial^{46,48}.

En diferentes poblaciones se han realizado estudios del polimorfismo -1562 C/T, en la región promotora del gen de la MMP-9, asociados al incremento en la expresión de la MMP-9, ocasionando así la ruptura de la placa aterosclerótica, seguida del evento isquémico^{43-45,48,52-54}; sin embargo estos datos no proporcionan información relevante para la población mexicana, misma que se ha considerado como mestiza mexicana, por lo cual

en este trabajo se estudió la participación del polimorfismo -1562 C/T en el gen de la MMP-9 y su posible asociación con IM en población mexicana.

Los resultados obtenidos en el análisis estadístico de las variables clínico-demográficas mostraron que la DM2, la hipertensión y el consumo de tabaco se presentaron en mayor porcentaje en los casos, lo cual es de esperarse, ya que estas tres condiciones forman parte de los factores de riesgo para presentar un IM, al igual que pertenecer al género masculino; por otra parte el índice de masa corporal (IMC) se mostró en mayor proporción en el grupo control, lo que podría indicar una tendencia de la población a malos hábitos alimenticios, que en un futuro podrían desencadenar la presencia de enfermedades cardiovasculares o metabólicas.

El análisis del polimorfismo -1562 C/T mostró que la población se encontró en equilibrio de H-W; por otra parte, las frecuencias genotípicas obtenidas por conteo directo mostraron una frecuencia muy baja para el genotipo T/T, por lo cual, se decidió agrupar con el genotipo C/T, como lo hicieron Koh y cols.⁴⁴, Sewelam y cols.⁴⁵ y Fernandes y cols.⁵³; reportando así una posible asociación de los genotipos C/T y T/T ($p=0.02$) con susceptibilidad a presentar IM ocasionado por ruptura de la placa aterosclerótica; siendo el alelo T un factor de riesgo con una $p=0.003$ y RM= 2.61 con un intervalo de confianza del 95% (1.32-5.23); datos similares fueron obtenidos por Koh y cols.⁴⁴ en población coreana, con un tamaño de muestra similar al empleado en este estudio, y por Zhi y cols.⁵² en población china con un tamaño de muestra superior; por otra parte Wang y cols.⁵⁶ realizaron un meta-análisis donde incluyeron 18 artículos de asociación de dicho polimorfismo con el IM, sus resultados indican una asociación clara entre ambos factores (RM = 1,14; $p = 0,02$; IC 95 % = 1.2 a 1.27), sin embargo, llegan a la conclusión que la asociación es independiente de la población.

Diferentes autores han estudiado la asociación del polimorfismo con patologías cardiovasculares diferentes como es el caso de Saedi y cols.⁴³ que lo asociaron con enfermedad arterial coronaria, Zhang y cols.⁴⁶ y Pollanen y cols.⁵⁷ con la gravedad de la aterosclerosis, Jones y cols.⁵⁸ con aneurismas, y Peters y cols.⁵⁹ con desarrollo de lesiones ateroscleróticas, todos ellos concluyeron que la variable genética influye en el aumento de la expresión de MMP-9. Sin embargo, no todos los estudios están en analogía con el presente, como es el caso de Wang y cols.⁴⁷ que no encontraron asociación del polimorfismo con el IM en población caucásica, esto pudiera explicar que la ruptura de la placa depende de un mayor número de factores, incluyendo el tamaño del núcleo lipídico, tipo de capa fibrosa, tensión a la que está sometida, además de la prevalencia de factores de riesgo como son el uso de tabaco, una dieta deficiente, niveles altos de LDL, glucosa, entre otros; estos factores también contribuyen al grado de fisura que se ocasiona en la placa, si el desgarro de la placa es menor de 200nm de ancho probablemente no ocasionará la formación de un trombo oclusivo, pero si el desgarro es mayor el trombo formado dentro de la luz del vaso lo ocluirá ocasionando el IM²⁴.

Además de la asociación entre el evento isquémico y el polimorfismo, se ha estudiado el aumento del nivel sérico de MMP-9 y el polimorfismo, como es el caso de Saedi y cols.⁴³, Pollanen y col.⁵⁷ y Dominic y cols.⁶⁰ donde se asocian el alelo T a un incremento en su expresión. Finalmente Galis y col.⁶¹ y Brown y col.⁶² cuantificaron MMP-9 y macrófagos en placas ateroscleróticas, encontrando niveles elevados de la enzima en placas vulnerables, estando en línea con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

9. Conclusión

Se determinaron los genotipos y alelos del polimorfismo -1562 C/T del gen de la MMP-9 en los individuos incluidos en el estudio, y después de ser analizados estadísticamente se observó una posible asociación entre el polimorfismo -1562 C/T y el infarto agudo de miocardio ocasionado por ruptura de la placa aterosclerótica en población mexicana, donde la presencia del alelo T podría estar confiriendo susceptibilidad.

10. Perspectivas

- Ampliar el tamaño de muestra de la población es estudio.
- Realizar estudios funcionales de la MMP-9.
- Cuantificar niveles séricos de la MMP-9 en pacientes con IAM.

11. Referencias

1. Instituto Mexicano del Seguro Social. Guía de práctica clínica. Intervenciones de enfermería en la atención del adulto con infarto agudo de miocardio. Evidencias y Recomendaciones. México. 2013.
2. Vargas A., Fragoso J. y Delgadillo H. Síndrome coronario agudo. Fisiopatología y genética Rev Invest Clin 2011; 63: 64-74.
3. Thygesen K., Alpert J., Jaffe A., et al. Third universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2012; 60:1581-1598.
4. Thygesen K., Alpert J., White H., et al. Universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2007; 50:2175-2195.
5. Instituto Mexicano del Seguro Social. Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento del Infarto Agudo de Miocardio con elevación del segmento ST en mayores de 65 años. México. 2013.
6. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadística a propósito del día internacional de las personas de edad. [Internet]. 2013, [Mayo 2014]. Disponible URL:<http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2013/adultos9.pdf>
7. RENASICA II. Archivos de cardiología de México. [Internet]. 2005, [Agosto de 2013]. Disponible URL:<http://www.medigraphic.com/pdfs/archi/ac-2005/acs051a.pdf>
8. Organización Mundial de la Salud. Cardiovascular diseases. [Internet]. 2013, [Agosto 2013]. Disponible URL:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html>
9. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadística a propósito del día internacional de las personas de edad. [Internet]. 2013, [Mayo 2014]. Disponible URL:<http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2013/adultos0.pdf>

10. Sociedad Europea de Cardiología (ESC) sobre el manejo del infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST). Guías de Práctica Clínica de la Sociedad Europea de Cardiología (ESC). Manejo del infarto agudo de miocardio en pacientes con elevación persistente del segmento ST. Rev Esp Cardiol. 2009; 62: e1-e47.
11. García C., Chorro G., López M. Cardiología clínica. España: PUV; 2007. Capítulo 1 Anatomía del corazón.
12. Porth C. Essentials of pathophysiology. 3ª ed. USA: Lippincot Williams y Wilkins. 2009. Circulatory function.
13. Yamada Y., Izawa H., Ichihara S., et al. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. N Engl J Med. 2002; 347:1916-1923.
14. Sociedad Europea de Cardiología (ESC) Y Sociedades sobre la Prevención de la Enfermedad Cardiovascular en la Práctica Clínica. Guía europea sobre prevención de la enfermedad cardiovascular en la práctica clínica. Rev Esp Cardiol. 2012; 65: e1-e66.
15. Latarjet M., Ruiz L. Anatomía humana. 4ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2008. Sección XIV Sistema cardiovascular.
16. Keith L. y Anne. Fundamentos de anatomía con orientación clínica. 2da ed. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2003: 26-31.
17. David Le Vay. Anatomía y fisiología humana. 2ª ed, España: Editorial Paidotribo. 2004. Capítulo 16 El corazón y la circulación.
18. Lo J. y Plutzky J. The biology of atherosclerosis: General paradigms and distinct pathogenic Mechanisms Among HIV-Infected Patients. J Infect Dis. 2012; 205: s368-s374.
19. Fernández G., Tardáguila F., López T., et al. Fisiopatología de la placa de ateroma y sus implicaciones en la imagen. Radiología 2003; 45: 107-14.

20. Corti R., Fuster V. y Badimon J. Pathogenetic concepts of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2003; 41: 7S–14S.
21. Steven D., Arif Y. y Wayne O. Hyperglycemia and endothelial dysfunction in atherosclerosis: lessons from type 1 diabetes. *Int J Vasc Med.* 2011; 2012: 1-19.
22. Soloperto G. y Casciaro S. Progress in atherosclerotic plaque imaging. *World J Radiol.* 2012; 4: 353-371.
23. Gallego S. y Picatoste B. Pathophysiology of Acute Coronary Syndrome. *Curr Atheroscler Rep.* 2014; 16: 401
24. Newby AC. Dual role of matrix metalloproteinases (Matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol Rev.* 2005; 85: 1–31.
25. Hubmacher D. y Apte S. The biology of the extracellular matrix: novel insights. *Curr Opin Rheumatol.* 2013; 25: 65–70.
26. Eynarg A., Valentich M. y Rovasio R. *Histología y embriología del ser humano. Bases celulares y moleculares.* 4ª Ed Buenos Aires: Médica Panamericana. 2008: 127-132.
27. Michael H., Gordon Kaye. y Wojciech P. *Histologia. Texto y Atlas a color con Biología Celular y Molecular.* 5ª Ed, Buenos Aires: Médica Panamericana. 2008: 165-180.
28. Lu P., Weaver V. y Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *J. Cell Biol.* 2012; 196: 395–406.
29. López B., Ravassa S., Arias T., et al. Alteraciones del metabolismo del colágeno fibrilar en la cardiopatía hipertensiva. Situación actual y perspectivas. *Rev Esp Cardiol.* 2006; 59: 1047-57.
30. Lu P., Takai K., Weaver V., Werb Z., et al. Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011; 3: 1-24.

31. Jone C., Sane D. y Herrington D. Matrix metalloproteinases: a review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovascular Research*. 2003; 59: 812–823.
32. Wannakorn P., Arintaya P., Nipon C. Matrix metalloproteinases and myocardial infarction. *Can J Cardiol*. 2007; 23: 727-733.
33. Mina M. y Raouf A. Matrix Metalloproteinase inhibitors as investigative tools in the pathogenesis and management of vascular disease. *EXS*. 2012; 103: 209–27.
34. Papazafiropoulou A. y Tentolouris N. Matrix metalloproteinases and cardiovascular diseases. *Hippokratia*. 2009; 13: 76-82.
35. Pérez H., Ibañes G., Vargas A., et al. Participación de las metaloproteinasas de matriz en el síndrome isquémico coronario agudo (SICA). *Gaceta Médica de México*. 2013; 149: 655-67.
36. Coronato S., Laguens G., Di Girolamo V. Rol De Las Metaloproteinasas y sus Inhibidores en Patología Tumoral. *MEDICINA*. 2012; 72: 495-502.
37. Hansson J., Vasan R., Arnlov J., et al. Biomarkers of extracellular matrix metabolism (MMP-9 and TIMP-1) and risk of stroke, myocardial infarction, and cause-specific mortality: cohort study. *P L of S*. 2011; 6: 1-7.
38. Raffetto J. y Khalil R. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular. Remodeling and vascular disease. *Biochem Pharmacol*. 2008; 75: 346–359.
39. Brauer P. MMPs- Role in Cardiovascular Development and Disease. *Front Biosci*. 2006; 11: 447-478.
40. Chow A., Cena J. y Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. *Br J Pharmacology*. 2007; 152: 189–205.

41. Halade G., Jin Y. y Lindsey M. Matrix metalloproteinase (MMP)-9: A proximal biomarker for cardiac remodeling and a distal biomarker for inflammation. *Pharmacol Ther.* 2013; 139: 32–40.
42. Blankenberg S., Rupprecht H., Poirier O., et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation.* 2003; 107: 1579-1585.
43. Saedi M., Vaisi-Raygan A., Khaghani S., et al. Matrix metalloproteinase-9 functional promoter polymorphism 1562C>T increased risk of early-onset coronary artery disease. *Mol Biol Rep.* 2012; 39: 555–562.
44. Koh Y., Chang K., Seung K., et al. A close relationship between functional polymorphism in the promoter region of matrix metalloproteinase-9 and acute myocardial infarction. *International Int J Cardiol.* 2008; 127: 430–432.
45. Sewelam N., Radwan E., Andraos A., et al. Association between the polymorphisms of matrix metalloproteinases 9 and 3 genes and risk of myocardial infarction in Egyptian patients. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics.* 2013; 14: 143-148.
46. Zhang B., Ye S., Herrmann S., et al. Functional Polymorphism in the Regulatory Region of Gelatinase B Gene in Relation to Severity of Coronary Atherosclerosis. *Circulation.* 1999; 99: 1788-1794
47. Wang J., Warzecha D., Wilcken D., et al. Polymorphism in the gelatinase B gene and the severity of coronary arterial stenosis. *Clin Sci.* 2001; 101: 87–92.
48. Demacq C., P. de Souza A., Machado A., et al. Genetic polymorphism of matrix metalloproteinase (MMP)-9 does not affect plasma MMP-9 activity in healthy subjects. *Clin Chim Acta.* 2006; 365: 83 – 187.
49. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM). Matriz metalloproteinase 9; MMP9. [Internet]. 2012, [Febrero 2014]. Disponible URL: <http://www.omim.org/entry/120361>

50. Gene Cards. The human Gene Compendium. Matrix Metalloproteinase 9 (gelatinase B, 92kDa, gelatinase). [Internet]. 2013, [Febrero 2014]. Disponible URL: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=MMP9>
51. Gen Atlas. Université Paris Descartes. [Internet]. 2014 [Mayo 2014]. Disponible URL: <http://www.genatlas.medicine.iniv-paris5.fr/fiche.php?symbol=MMP9>
52. Zhi H., Wang H., Ren L., et al. Functional polymorphisms of matrix metalloproteinase-9 and risk of coronary artery disease in a Chinese population. *Mol Biol Rep.* 2010; 37: 13–20.
53. Fernandes K., Brum D., Palei A., et al. Functional MMP-9 polymorphisms modulate plasma MMP-9 levels in multiple sclerosis patients. *J Neuroimmunol.* 2012; 249: 56–59.
54. Wang L., Ma Y., Hie X., Yang Y., et al. Association of MMP9 gene -1562C>T polymorphism with myocardial infarction in Uighur population of Xinjiang. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi.* 2011; 28: 180–184.
55. Medley T., Cole T., Dart A., et al. Matrix metalloproteinase-9 genotype influences large artery stiffness through effects on aortic gene and protein expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24: 1479-1484
56. Wang L., Xu D., Wu X., et al. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in myocardial infarction: a meta-analysis. *Heart.* 2011; 97: 1562-6.
57. Pollanen P., Karhunen P., Mikkelsen J., et al. Coronary artery complicated lesion area is related to functional polymorphism of matrix metalloproteinase 9 gene. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2001; 21: 1446-1450.
58. Jones G., Phillips V., Harris E., et al. Functional matrix metalloproteinase-9 polymorphism (C-1562T) associated with abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2003; 38: 1363–7.

59. Peters D., Kassam A., St Jean P., et al. Functional polymorphism in the matrix metalloproteinase-9 promoter as a potential risk factor for intracranial aneurysm. *Stroke*. 1999; 30: 2612–6.
60. Dominic K., Gillian C., Leong L. et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 and left ventricular remodelling after acute myocardial infarction in man: a prospective cohort study. *Eur Heart J*. 2007; 28: 711–718.
61. Galis Z., Sukhova G., Lark M., et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*. 1994; 9: 2493–2503.
62. Brown D., Hibbs M., Kearney M., et al. Identification of 92-kD gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions. *Circulation*. 1995; 91: 2125–2131.