

Participación de las metaloproteinasas de matriz en el síndrome isquémico coronario agudo (SICA)

Nonanzit Pérez-Hernández¹, Cyntia Ibanes-Gutiérrez¹, Gilberto Vargas-Alarcón¹, Nancy Martínez-Rodríguez¹, Irma Eloísa Monroy-Muñoz¹, Benjamín Valente-Acosta¹, Óscar Pérez-Méndez¹, Roxana Barrera-Ramírez¹, Teresa Juárez-Cedillo² y José Manuel Rodríguez Pérez^{1*}

¹Departamento de Biología Molecular, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, México, D.F.; ²Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud, Área de Envejecimiento, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

Resumen

Las metaloproteinasas de matriz (matrix metalloproteinases [MMP]) son enzimas que degradan proteínas de la matriz extracelular (extracellular matrix [ECM]) y regulan tanto la acumulación como la composición de esta. Las MMP están involucradas en el proceso de aterosclerosis ya que contribuyen a la formación de la placa aterosclerótica y su posterior ruptura. Este último paso es el que provoca, en el miocardio, la isquemia que se reflejará clínicamente como un SICA. A mayor transcripción de los genes que las codifican, mayor actividad enzimática. Por ello, si algún polimorfismo en estos genes modifica la transcripción, puede haber mayor predisposición a desarrollar un SICA. Efectivamente, numerosos estudios revelan que ciertas variaciones genéticas de las MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9, -12 y 14 tienen un papel importante ya sea como factores de riesgo o como protectores para la manifestación de un SICA.

PALABRAS CLAVE: MMP. SICA. Polimorfismo.

Abstract

Matrix metalloproteinases (MMP) are enzymes that degrade extracellular matrix (ECM) proteins and regulate both their accumulation and composition. The MMP are involved in the atherosclerotic process since they contribute to the formation of the plaque and its subsequent rupture. This last step triggers the myocardial ischemia that will be clinically reflected as an acute coronary syndrome (ACS). Thus, MMP activity is a key to whether ACS develops or not. With an elevated transcription rate of the genes that codify these proteinases comes a higher enzymatic activity. This explains that if a polymorphism in the mentioned genes modifies transcription, there could be a predisposition to developing ACS. Several studies reveal that certain genetic variations in MMP-1, -2, -3, -7, -8, -9, -12, and -14 have an important role either as risk factors or as protective factors for the expression of ACS. (Gac Med Mex. 2013;149:655-67)

Corresponding autor: José Manuel Rodríguez Pérez, josemanuel_rodriguezperez@yahoo.com.mx

KEY WORDS: Matrix metalloproteinase. Acute coronary syndrome. Polymorphism.

Introducción

El SICA es, hoy en día, uno de los problemas de salud más importantes del mundo^{1,2}. Corresponde a la

expresión clínica de un desequilibrio entre el aporte y la demanda de oxígeno en el miocardio, originado, en un gran número de casos, por la ruptura de una placa de ateroma. Durante el proceso que desencadena el SICA y el que sigue al periodo de isquemia, es liberado un número considerable de citocinas y enzimas proteolíticas. Entre estas últimas se ubican las

Correspondencia:

*José Manuel Rodríguez Pérez
Departamento de Biología Molecular
Instituto Nacional de Cardiología «Ignacio Chávez»
Juan Badiano, 1
Col. Sección XVI, Del. Tlalpan C.P. 14080, México, D.F.
E-mail: josemanuel_rodriguezperez@yahoo.com.mx

Nonanzit Pérez-Hernández y Cyntia Ibanes-Gutiérrez
contribuyeron igual en el manuscrito

Fecha de recepción: 22-05-2013

Fecha de aceptación: 25-10-2013

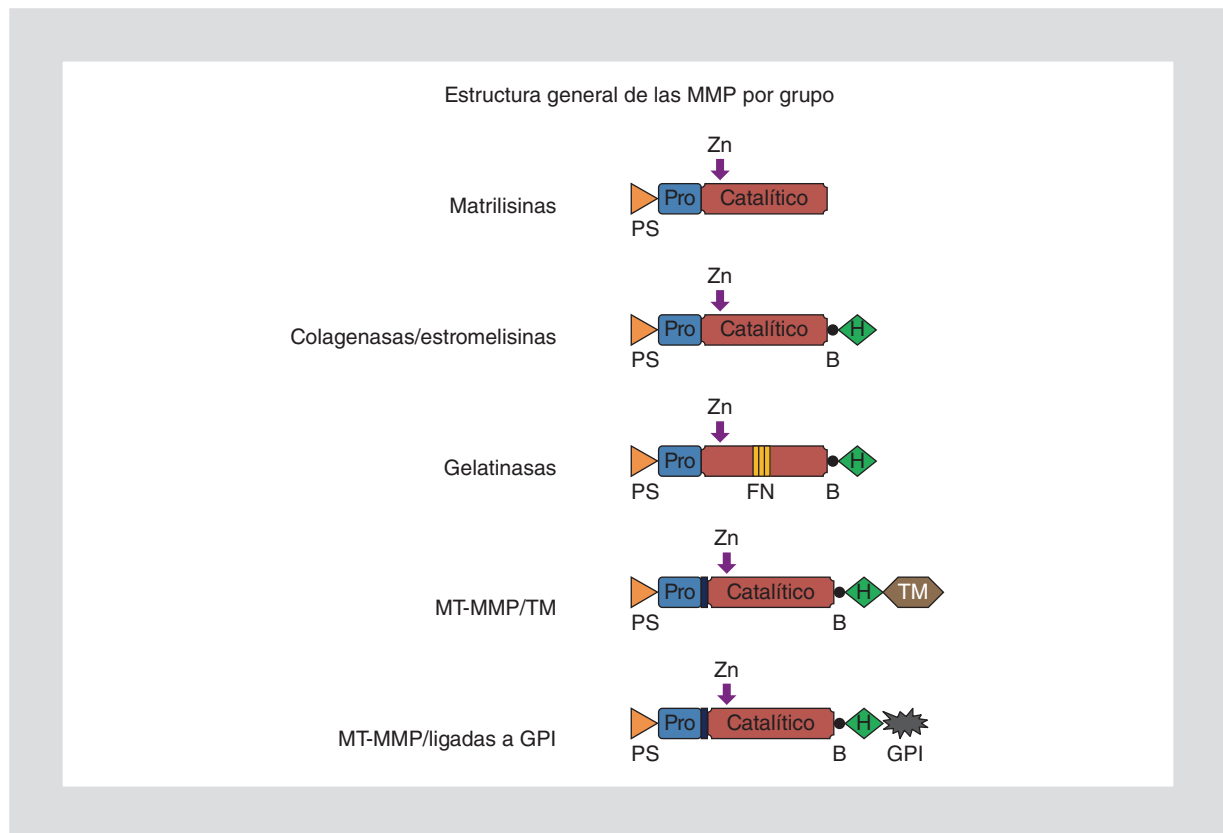


Figura 1. Dominio estructural general para cada grupo de MMP. Estos dominios poseen un péptido señal (PS), un prodominio (Pro), un dominio catalítico con el sitio activo de unión a Zn, un dominio de bisagra (B), un dominio H y, para algunas, un dominio TM o de anclaje (GPI), un sitio de escisión por furina (F) entre el Pro y el dominio catalítico. Las gelatinasas poseen además repeticiones similares a FN de tipo II.

metaloproteinasas de ECM o MMP, que participan tanto en la ruptura de la placa de ateroma³, paso crucial en el desarrollo del SICA, como en la remodelación cardiovascular posterior⁴. Se han establecido dichas enzimas como marcadores del daño coronario en pacientes con SICA⁵⁻⁷. Por esto, los genes que codifican las MMP y las variaciones que puede haber en ellos son candidatos para determinar el riesgo de enfermedad arterial coronaria (EAC).

Objetivo

Examinar trabajos de biología molecular sobre polimorfismos en genes de las MMP involucradas en el proceso del SICA. Se pretende identificar aquellas variaciones genéticas que permitan determinar tanto la predisposición a la ruptura de placas de ateroma como la calidad y cantidad de remodelación cardíaca al sobrevenir un SICA, convirtiendo así la genómica en una herramienta para practicar una medicina más personalizada e individualizada.

Generalidades de las MMP

Las MMP, también llamadas matrixinas, constituyen una familia de más de 20 miembros de endopeptidasas dependientes de zinc (Zn). Todas comparten algunas características funcionales y morfológicas: degradan componentes de la ECM, la mayoría son secretadas como zimógenos y deben ser activadas para adquirir su acción proteolítica, contienen Zn en su sitio activo y requieren calcio como agente estabilizador (de ahí, el prefijo «metalo-»), funcionan a pH neutro y son inhibidas por los llamados inhibidores tisulares de metaloproteinasas (*tissue inhibitors of metalloproteinases* [TIMP]) específicos⁸.

Características moleculares

Las MMP comparten un dominio estructural básico similar, pero pueden ser divididas en cinco grupos en función de su estructura (Fig. 1) y su especificidad de sustrato *in vitro*^{8,9}:

- Colagenasas: pueden degradar moléculas de colágena fibrilar de los tipos I, II, III y X. Incluyen: MMP-1, MMP-8 y MMP-13^{10,11}.
- Gelatinasas: degradan gelatinas (colágenas desnaturalizadas), lamininas, fibronectina (FN), elastina y colágena de tipo IV de las membranas basales. En este grupo se ubican: MMP-2 y MMP-9^{10,11}.
- Estromelisinases: son activas ante un amplio espectro de componentes de la ECM, como proteoglucanos, lamininas, FN, vitronectina y algunos tipos de colágenas desnaturalizadas. Se incluyen: MMP-3, MMP-10, MMP-11 y MMP-12^{10,11}.
- Matrilisinases: degradan colágena de tipo IV y proteoglucanos. Comprenden la MMP-7^{10,11}.
- Metaloproteasas membranales (*membrane type metalloproteinases* [MT-MMP]): al igual que las estromelisinases, degradan varios componentes de la ECM y pueden activar otras MMP. Las MT-MMP se adosan a la membrana celular mediante dos mecanismos: dominios transmembranales (TM) con colas citoplásmicas o anclaje a la membrana por medio de glicosilfosfatidilinositol. Además, son capaces de procesar otras moléculas de señalización. Entre ellas están las MMP-14 a 17^{10,11}.

Además de estos cinco grupos, algunas metaloproteasas se clasifican como «otras» por la falta de información que aún no se tiene sobre ellas. Recientemente, se ha demostrado que la especificidad de sustrato no es absoluta¹².

Regulación de la actividad de las MMP

La actividad de las MMP puede ser regulada a tres niveles: transcripción del gen que codifica para la MMP, activación del zimógeno e inhibición endógena de la enzima activa⁸. Las citocinas proinflamatorias como interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6), el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y factores como el de crecimiento epidérmico (EGF) o el de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) estimulan la síntesis de MMP^{13,14}. Los corticosteroides, la heparina y la interleucina 4 (IL-4) inhiben la expresión de los genes de las MMP¹⁵. Además, la síntesis de MMP puede ser estimulada por una proteína de superficie denominada inductor de MMP extracelular, particularmente en procesos oncológicos^{16,17}. Varias proteasas actúan en el proceso de activación de las MMP: plasmina, tripsina, quimasa, elastasa y calicreína. De estas proteasas, la plasmina

es el activador más potente en condiciones fisiológicas. El estrés oxidativo también puede activarlas al inducir cambios conformacionales¹⁸. Los TIMP son una familia de enzimas que inhiben endógenamente las MMP una vez que estas son activas. Constan de cuatro miembros: TIMP-1, 2, 3 y 4¹⁹. Cabe mencionar en este punto que el nivel de expresión de la mayoría de las MMP en adultos generalmente es bajo y se mantiene indetectable en sangre periférica. Los niveles se elevan cuando hay necesidad de reparar o remodelar un tejido dañado²⁰.

MMP, aterosclerosis y SICA

En el desarrollo de la aterosclerosis, la familia de genes de las MMP y sus inhibidores tisulares endógenos regulan la acumulación de ECM y, en consecuencia, el crecimiento o no de la placa aterosclerótica²¹. Además, las MMP parecen ser más activas en las regiones inestables de la placa, favoreciendo su ruptura²² y, con esto, la presentación del SICA. En la tabla 1 se resume la asociación de polimorfismos de las MMP en enfermedad cardiovascular.

MMP-1

Nombres alternativos

Colagenasa intersticial, colagenasa-1 (CLG1), colagenasa fibroblástica²³.

Locus

11q22.2-22.3²³.

Función

La MMP-1 degrada colágena fibrilar formando gelatina, susceptible a la acción de otras MMP. Una gran variedad de moléculas son también sustrato para esta colagenasa, confiriéndole un rol esencial en el remodelado de la ECM; en efecto, actúa sobre el agregado, el versicano, la caseína y la tenascina-C. Además, puede romper enlaces en moléculas que no pertenecen a la ECM con la consiguiente activación o inactivación de estas. Un ejemplo es la regulación del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) al escindir a la proteína de unión a IGF²³. Debido a sus funciones, se ha asociado un aumento de la actividad de la MMP-1 con hipertrofia cardíaca²⁴, enfermedades articulares²⁵ y cáncer²⁶.

Tabla 1. Asociación de polimorfismos de las MMP en enfermedad cardiovascular

Gen	Polimorfismo	Enfermedades asociadas	Referencias
MMP-1	-1607 G/GG	EAC	Rutter ³⁰ , Ranganathan ¹¹⁴ , Ye ¹¹⁵
	519-G/340-C	IAM	Pearce ³¹
MMP-2	-1575 G > A	EAC	Price ³³
	-1306 C > T		
	1575-A/1306-C/790-T/735-C	IAM	Alp ⁴¹ , Vaskú ⁴²
	1575-A/1306-C/790-T/735-T		
	1575-A		Pérez-Hernández ⁴³
MMP-3	1306-C		Delgado-Enciso ⁴⁴
	-1612 5A/6A	Estenosis coronaria, calcificación coronaria, aneurisma coronario, reestenosis coronaria postangioplastia, aterosclerosis carotídea, infarto	Ye ¹¹⁶ , Beyzade ⁵⁶ , Ye ¹¹⁷
	376-G	IAM	Zhou ⁶¹
	1612-5A		Zhou ⁶¹
	376-G		Zhou ⁶¹
	1612-5A/376-G/45-Lys		Zhou ⁶¹
	1612-5A/5A	asociado a tabaquismo	Humphries ⁵⁹
MMP-7	-181 A > G	EAC	Jormsjö ⁶⁶
	-153 C > T		Jormsjö ⁶⁶
MMP-8	799-TT	Aterosclerosis carotídea estable	Djurić ⁷⁶
	381-G En mujeres	Aterosclerosis carotídea	Djurić ⁷⁶
	87-Glu	Aterosclerosis coronaria	Laxton ⁷⁷
MMP-9	-1562 C > T	EAC, rigidez arterial	Zhang ⁸⁹ , Blankenberg ⁹⁰ , Morgan ¹¹⁸ , Pöllänen ¹¹⁹ , Jones ¹²⁰
MMP-12	-82 A > G	EAC	Jormsjö ⁹⁹
MMP-13	-77 A > G	Aterosclerosis aorticoabdominal	Yoon ¹⁰⁵

Regulación

Entre los factores que estimulan la transcripción del gen de la MMP-1 se encuentran los ésteres de forbol por medio de un sitio de unión a proteína activadora-1 (AP-1)²⁵. Diversas citocinas son también inductores de la MMP-1: EGF, los factores de crecimiento fibroblástico (FGF) 1, 2, 7 y 9, el factor de crecimiento de hepatocitos, el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, los interferones β y γ , el factor de crecimiento transformante α (TGF- α) y las IL-1, 2, 4, 5, 6, 8 y 10²⁷. Por otra parte, la transcripción de MMP-1 es disminuida por algunos derivados de la vitamina A y el TGF- β a través de un elemento inhibitorio

de factor de crecimiento transformante β (TIE), cuya mutación produce un aumento significativo de la transcripción de MMP-1²⁸. Por último, para que la activación de la procolagenasa MMP-1 se lleve a cabo de manera completa, se requiere la conjunción de la actividad de dos proteinasas: el activador de plasminógeno de tipo urocinasa y la MMP-3 (estromelisin-1)²⁹. La actividad de la MMP-1 es inhibida directamente al formar un complejo con el TIMP-1²⁷.

Polimorfismos y sus consecuencias

Como se ha mencionado anteriormente, ciertos mediadores inflamatorios inducen un aumento de la

expresión de MMP-1. Además de la inflamación, existe la posibilidad de que este incremento se deba a factores genéticos. En un promotor de *MMP-1* en la posición -1607 pb, la inserción de una guanina adicional crea un sitio de unión para el factor de transcripción Ets, 5'-GGA-3', incrementando significativamente la tasa de transcripción³⁰; este polimorfismo se ha relacionado con ciertos tipos de cáncer²⁶. Un estudio realizado por Pearce, et al.³¹ analizó el efecto del haplotipo que involucra a los polimorfismos 519A > G y -340T > C del gen de la MMP-1 sobre el riesgo de infarto agudo de miocardio (IAM) en una población británica y en una sueca. Se encontró que, en relación con el haplotipo A-519/T-340, los haplotipos A-519/C-340 y G-519/T-340 tenían un efecto protector (RM: 0.70; intervalo de confianza [IC] 95%: 0.57-0.86; $p = 0.0007$) y, en contraste, el haplotipo G-519/C-340 aumentó el riesgo de IAM (RM: 1.94; IC 95%: 1.15-3.28; $p = 0.013$)³¹.

MMP-2

Nombres alternativos

Gelatinasa A.

Locus

Cromosoma 16q13³².

Función

Esta MMP de 62 kDa está involucrada en la degradación de colágeno IV y se encuentra en la mayor parte del tejido conectivo³³. En el corazón se encuentra en las capas endocárdica y subendocárdica, siendo así una de las MMP más prevalentes en los tejidos cardíacos. Se encuentra en la circulación coronaria. Por otra parte, durante la agregación plaquetaria mediada por metaloproteasas, un pico de MMP-2 es liberado de las plaquetas mismas en cuestión de segundos. Debido a esto, en la reperusión que sigue a un periodo de isquemia, la liberación aguda de MMP-2 agrava la disfunción mecánica del corazón³⁴. Se ha observado que cadenas pesadas de miosina son sustrato para la MMP-2 y que los productos de degradación se encuentran en corazones de cardiomiópatas³⁵ revelando la actividad de la enzima. También ha sido descrita su participación en procesos ateroscleróticos permitiendo la migración de células de músculo liso y facilitando la ruptura de la placa de ateroma³³.

Regulación

La región promotora del gen *MMP-2* posee sitios de unión para los factores de transcripción AP-2, p53, Sp1 y Sp3³⁶⁻³⁸, todos ellos reguladores de la producción de la enzima. Por tanto, cualquier modificación de estas regiones es susceptible de cambiar la tasa de transcripción de la MMP-2³³.

Polimorfismos y sus consecuencias

Price, et al.³³ identificaron 15 variantes en la secuencia del gen *MMP-2*, todas sustituciones de una sola base; se contaron siete transversiones y ocho transiciones. De los polimorfismos, seis se localizaron en el promotor, seis en la región codificante, uno en el 5'-UTR, uno en el 3'-UTR y uno en una secuencia de intervención (o intrón). La mayoría de estas variantes no causa modificaciones en la secuencia de aminoácidos. Sin embargo, la transición G→A en la posición -1646 provoca la sustitución de una glicina por una serina (G456S). Otra de las variantes encontradas fue la transición C→T en la posición -1306, donde el alelo -1306C resulta en una mayor actividad del promotor de *MMP-2*. A pesar de esto, la menor actividad promotora del alelo -1306T podría estar relacionada con enfermedades que involucran la regulación de la ECM, como el desarrollo de la EAC. Sin embargo, otros estudios realizados hasta ahora no han logrado demostrar esta asociación entre el polimorfismo de único nucleótido (*single nucleotide polymorphism* [SNP]) -1306 C/T y la EAC o el IAM en las poblaciones francesa, alemana³⁹, estadounidense⁴⁰ o turca⁴¹. En lo que concierne al polimorfismo -790 T/G, Vasku, et al.⁴² encontraron una asociación entre el genotipo TT y la angina de pecho en la población checa, contrariamente al reporte de Alp, et al.⁴, que no se halló dicha relación en la población turca. La sustitución -735 C/T destruye un elemento de unión a Sp1, alterando la transcripción de *MMP-2*³³. En el estudio de Alp, et al.⁴¹ el genotipo -735TT fue casi significativamente ($p = 0.054$) menos frecuente en controles que en pacientes con IAM, y aumentó en tres veces el riesgo de desarrollar un IAM. De los polimorfismos mencionados, este mismo estudio demostró que el haplotipo A-1575/C-1306/G-790/C-735 está asociado a pacientes con EAC y antecedentes de IAM; este haplotipo aumenta seis veces el riesgo de desarrollar EAC en relación con el haplotipo GCTC, que es el más común⁴¹. En el estudio de Alp, et al.⁴¹ no hubo asociación entre los polimorfismos -1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G del gen de *MMP-2* y la EAC. En cambio, Pérez-Hernández, et al.⁴³,

que estudiaron siete polimorfismos en distintos genes de MMP en pacientes mexicanos, reportaron que el polimorfismo *MMP2-1575 A/G* (rs243866) fue el único que se asoció con un mayor riesgo de presentar IAM en la población estudiada. Efectivamente, el alelo A mostró una frecuencia significativamente mayor en los pacientes que en los controles⁴³. Otro estudio realizado por Enciso, et al.⁴⁴ refiere que el genotipo CC del polimorfismo *MMP2-1306* aumenta el riesgo de IAM en la población mexicana. No obstante, ni Pérez-Hernández, et al.⁴³ en otra población de mexicanos, ni Horne et al.⁴⁵ en una población caucásica detectaron dicha asociación. En cambio, Pérez-Hernández, et al., al estudiar en conjunto los polimorfismos de *MMP-2* siguientes: -1575 A/G (rs243866), -1306 C/T (rs243865), -790 T/G (rs243864) y -735 C/T (rs22850553), encontraron que los haplotipos ACTC y ACTT fueron más frecuentes en los pacientes con IAM, y el ATTC tuvo una frecuencia menor en los IAM que en los controles. Se observa que el factor de riesgo principal es el alelo C en la posición -1306⁴³.

MMP-3

Nombres alternativos

Estromelisina humana fibroblástica; estromelisina 1 (STMY1; STR1), transina, progelatinasa.

Locus

11q22.2-22.3⁴⁶.

Función

La MMP-3 es una proteasa íntimamente relacionada con la collagenasa MMP-1 y tiene un amplio rango de especificidades para el sustrato. Es producida principalmente en el tejido conectivo y puede degradar proteoglicanos, FN, laminina y colágena de tipo IV, pero no la de tipo I. Es capaz de activar otras MMP, entre ellas collagenasas y gelatinasas⁴⁷. Por hibridación *in situ* de ARNm se demostró la presencia de MMP-3 en las placas ateroscleróticas coronarias, sobre todo en las zonas más susceptibles de ruptura⁴⁸. También se ha observado que la MMP-3 promueve el inicio de la formación tumoral en el cáncer de mama⁴⁹.

Regulación

La expresión de estromelisina es regulada principalmente en el punto de su transcripción por estímulos

que actúan en su región promotora, entre ellos factores de crecimiento y citocinas. Los niveles de ARNm son inducidos por IL-1 β y suprimidos por ácido retinoico y dexametasona^{50,51}. El PDGF y el EGF estimulan la transcripción de la transina por medio de factores que reconocen la secuencia TGAGTCA ubicada en el promotor del gen de la MMP-3. El PDGF lo hace a través de la proteína c-fos y el EGF, a través del factor de transcripción Jun/AP-1⁵². La estromelisina I activa la MMP-7⁵³ y ambas interactúan durante la remodelación tisular⁵⁴.

Polimorfismos y sus consecuencias

Uno de los polimorfismos más estudiados para el gen de la STMY1 se encuentra en su secuencia promotora, en la posición -1612, donde uno de los alelos contiene una serie de seis adeninas (6A) y otro, una serie de cinco (5A). Ye, et al. reportaron que el polimorfismo 5A/6A parece jugar un papel importante en la expresión de STMY1, donde el alelo 5A resulta en una actividad dos veces mayor que el 6A⁵⁵. A raíz de esto, varios estudios han demostrado que esta delección/inserción tiene un rol notable en el desencadenamiento del IAM⁵⁶⁻⁵⁸ y en la extensión de la aterosclerosis coronaria⁵⁶. Humphries, et al. reportaron la relación entre el tabaquismo, el genotipo de la MMP-3 y el riesgo de EAC en un estudio prospectivo de hombres sanos de mediana edad. Encontraron que el tabaquismo en curso doblaba el riesgo de padecer EAC y examinaron si este riesgo era modificado por el genotipo de la MMP-3. Encontraron que en varones no fumadores aquellos con el genotipo 5A/6A tenían 1.37 veces el riesgo de presentar EAC en relación con el grupo 5A/5A y, de igual manera, la razón de momios fue de 3.02 en el grupo con el genotipo 6A/6A. En los fumadores, al compararlos con el grupo 5A/5A no fumador, el tabaquismo incrementó el riesgo de EAC a 1.91 veces en el grupo 5A/6A, a 4.01 veces en el grupo 6A/6A y a 3.81 veces en el grupo 5A/5A⁵⁹. Liu, et al. mostraron que la serie de cinco adeninas, ya sea como genotipo homocigoto (5A/5A) o heterocigoto (5A/6A), es más frecuente en pacientes con antecedentes de IAM (frecuencia del 59.2% en pacientes con eventos cardíacos posteriores al IAM índice y del 41.3% en pacientes sin eventos cardíacos posteriores) que en individuos sanos (27.4%). Así, concluyeron que este polimorfismo tiene un fuerte impacto en el pronóstico de pacientes que han sufrido un IAM prematuro y más aún en los pacientes fumadores⁶⁰. Apoyando el trabajo de Humphries, et al. antes citado⁵⁹, Liu, et al. encontraron una asociación entre el consumo de tabaco, el alelo 5A y el pronóstico tras dejar el hábito de fumar. Efectivamente,

el mayor beneficio tras dejar de fumar fue para el grupo de pacientes con el genotipo 5A⁶⁰. Además, se ha atribuido al alelo 5A un mayor riesgo de IAM a edades tempranas⁵⁸. En otro estudio de casos y controles conducido en China por Zhou, et al. también se encontró que el alelo 5A está asociado con el IAM. Igualmente, hallaron una relación entre el polimorfismo -376C/G y el IAM con una mayor frecuencia del alelo -376G en los casos que en los controles⁶¹, aunque fue moderada y no se ha encontrado en otros estudios⁵⁶. Sin embargo, este estudio reveló, para los dos polimorfismos, que tanto el genotipo dominante (6A6A o CC) como el aditivo (5A5A o GG) están asociados a procesos involucrados en el SICA. Ya que este último resultado puede parecer un tanto contradictorio, se debe considerar que el alelo 6A, por ser transcripcionalmente menos activo, promueve la acumulación de matriz en la pared arterial, es decir, el desarrollo del ateroma, mientras que el alelo 5A, que aumenta la transcripción, suscita la inestabilidad de la placa aterosclerótica^{56,57}. Según el análisis por género realizado en el estudio de Zhou, et al. en China, la asociación entre los polimorfismos 5A/6A y -376C/G y el IAM solo se observa en hombres⁶¹; en cambio, un estudio japonés mostró una asociación entre el alelo 6A y mayor riesgo de presentar IAM en mujeres⁶². Adicionalmente, Zhou, et al. analizaron la asociación del haplotipo con el IAM añadiendo a la investigación el polimorfismo Glu45Lys. El haplotipo -1612 5A, -376G, 45Lys se asoció con un mayor riesgo de presentar IAM en comparación con los haplotipos más comunes (6A-C-Glu en la población estudiada). Por último, concluyeron que en la población de estudio tanto el haplotipo -1612 5A, -376G, 45Lys como los alelos -1612 5A y -376G de manera independiente se asocian a un mayor riesgo de IAM⁶¹. Otro grupo de investigadores japoneses, al estudiar el polimorfismo 1G/2G del gen de la MMP-1 ya mencionada y el 5A/6A del gen de la MMP-3, encontró una asociación entre el haplotipo 1G-5A y el riesgo de IAM, reforzando los resultados ya expuestos⁶³.

MMP-7

Nombres alternativos

Matrilisina, matrinal, metaloproteinasa-1 putativa, metaloendopeptidasa uterina¹¹.

Locus

11q21-q22⁶⁴.

Función

La MMP-7 es una de las MMP más pequeñas⁶⁵ y no presenta dominio de tipo hemopexina (H)⁸. La MMP-7 tiene una gran variedad de sustratos, entre ellos elastina, proteoglicanos, FN y colágenas (IV a X)⁶⁶. Esta MMP es capaz de activar los zimógenos de MMP-1, 2, 8 y 9, y su ausencia disminuye la síntesis de pro-MMP-13 a través de la acumulación de pro-MMP-8⁶⁷. Se ha sugerido que esta enzima puede tener un papel importante en la EAC ya que se expresa en macrófagos de los sitios de ruptura potencial en las lesiones ateroscleróticas⁶⁸.

Regulación

En procesos patológicos, principalmente oncológicos, la MMP-7 es regulada a la alta por los factores AP-1 y STAT-3 en presencia de catecolaminas⁶⁹. Además, esta matrilisina puede ser activada por la MMP-3⁶⁴.

Polimorfismos y sus consecuencias

Jormsjö, et al. identificaron dos polimorfismos en la región promotora de la MMP-7 que tienen influencia sobre el diámetro arterial coronario en presencia de hipercolesterolemia, siendo así un factor de riesgo para el SICA. Encontraron que en pacientes hipercolesterolémicos el alelo G en la posición -181 mostró un diámetro luminal más pequeño que los homocigotos para el alelo A. De la misma forma, aquellos que presentaron el alelo T en lugar del C en la posición -153 también tenían diámetros arteriales reducidos a nivel coronario. Ambos polimorfismos se asocian con una mayor actividad transcripcional basal *in vitro*, únicamente cuando hay hipercolesterolemia. Esto parece relacionarse con la posible acumulación de macrófagos derivados de monocitos que se presenta al haber altos niveles de colesterol en sangre ya que estas células son productoras de MMP-7 y, por tanto, reflejarían los efectos de los polimorfismos descritos. Sin embargo, no se puede llegar a una conclusión definitiva hasta que se lleven a cabo estudios con cohortes más grandes⁶⁶.

MMP-8

Nombres alternativos

Colagenasa de neutrófilos.

Locus

11q22.3⁷⁰

Función

La MMP-8 se almacena en gránulos secundarios de los neutrófilos y se activa por autólisis⁸. Degrada colágena de tipo I a III, V, VII y VIII a X, gelatina, agregano y FN⁶⁴.

Regulación

Esta colagenasa es activada por la MMP-3 y la MMP-10, es decir, dos estromelisinases que remueven el propéptido del zimógeno^{64,71}.

Polimorfismos y sus consecuencias

Un estudio reciente sugiere que altos niveles séricos de marcadores de neutrófilos, entre ellos la MMP-8, reflejan un mayor riesgo de desarrollar SICA recurrente, particularmente en pacientes que no tienen enfermedades periodontales y no reciben antimicrobianos⁷². Igualmente, se ha detectado que el aumento de las concentraciones séricas de MMP-8 y TIMP-1 puede reflejar inestabilidad de la placa aterosclerótica y daño tisular⁷³. Los estudios sobre la influencia de los polimorfismos de la MMP-8 en las arterias se han llevado a cabo sobre todo a nivel de las carótidas, alejándose un poco de la relación directa con el SICA, pero vale la pena mencionarlos por el proceso similar que implican. En efecto, Pradhan-Palikhe, et al.⁷⁴, por un lado, y Wang, et al.⁷⁵, por otro, encontraron que el SNP C/T en la posición -799 del gen de la MMP-8 está asociado con aterosclerosis en las carótidas. Así, el primer estudio describe que el genotipo TT es más frecuente en pacientes con enfermedad arterial que en voluntarios sanos⁷⁴ y el segundo, que lo es en pacientes con placas carotídeas inestables en comparación con pacientes que tienen placas estables⁷⁵. De esta forma, los niveles plasmáticos de MMP-8 se encuentran elevados cuando el genotipo es TT, y esto convierte al alelo C en un factor protector contra el desarrollo de aterosclerosis en las carótidas. Un tercer estudio añadió un segundo polimorfismo, el -381 A/G, al anteriormente mencionado, encontrando una asociación entre el alelo -381G y el desarrollo de placas ateroscleróticas en carótidas de mujeres. Adicionalmente, se halló una mayor expresión de MMP-8 en las placas ateroscleróticas de pacientes con el haplotipo

G-381 T-799 que en las de los portadores del haplotipo de referencia A-381 C-799; conviene destacar que este hallazgo sólo se dio en mujeres y hay que mencionar que dicha asociación perdió su significancia estadística al ajustar con posibles factores de confusión⁷⁶. Por otra parte, en relación con las arterias coronarias, un estudio realizado por Laxton, et al. mostró una asociación significativa ($p = 0.0008$) entre la extensión de la aterosclerosis coronaria en pacientes con EAC y el SNP rs1940475 (Lys87Glu). El polimorfismo en cuestión es una sustitución no sinónima de la porción propeptídica de la MMP-8 en la posición del aminoácido 87, que cambia al glutamato dado por el alelo C, a lisina, cuando se tiene el alelo T. El alelo T fue más frecuente en pacientes con estenosis > 50% en una sola arteria coronaria que en pacientes con estenosis > 50% en dos o tres arterias, correlacionándose así con menor daño⁷⁷. Además, este grupo de investigadores analizó a pacientes del estudio Bruneck, un estudio prospectivo poblacional sobre aterosclerosis^{78,79}, para observar si existía alguna relación entre el progreso de la aterosclerosis y las variaciones en el gen de la MMP-8. Hallaron que el alelo T del SNP rs1940475 mencionado tenía un efecto protector contra la evolución de las placas ateroscleróticas a nivel carotídeo en un seguimiento de 10 años. Para explicar esto, por medio de un análisis *in vitro*, investigaron si el SNP Lys87Glu afectaba la activación de la metaloproteasa en cuestión y encontraron que la proenzima que posee una lisina en la posición 87 (alelo T) es más difícilmente activada que el zimógeno con Glu 87 (alelo C)⁷⁷. Por tanto, a mayor activación de la MMP-8, mayor evolución de la aterosclerosis.

MMP-9

Nombres alternativos

Gelatinasa B, gelatinasa del macrófago, gelatinasa del neutrófilo, colagenasa de tipo IV, colagenasa de tipo V¹¹.

Locus

20q11.2-q13.1⁶⁴.

Función

La MMP-9 es capaz de degradar gelatina, colágena de tipo IV⁸⁰, entactina, agregano, elastina y FN⁶⁴.

Regulación

La MMP-9 es estimulada por el TNF- α a través de la vía de señalización Raf/MEK/ERK^{81,82}. En cambio, el TGF- β suprime la inducción que tiene el TNF- α sobre la secreción de MMP-9 en monocitos⁸³.

Polimorfismos y sus consecuencias

Se ha observado una sobreexpresión de MMP-9 en placas de aterosclerosis y su implicación en la ruptura de estas⁸⁴. Además, se ha descrito que altos niveles de esta enzima se relacionan con la aterosclerosis⁸⁵ y otras enfermedades cardiovasculares, como la hipertensión sistólica, la rigidez aórtica⁸⁶ y la EAC^{87,88}. Así, esta metaloproteasa juega un papel crucial en la remodelación vascular y la aterogénesis. Un polimorfismo en la región promotora de *MMP-9* en la posición -1592 ha sido relacionado con enfermedades cardiovasculares causadas por aterosclerosis coronaria. Se trata de una transición de una sola base entre citosina (C) y timina (T), donde el alelo T produce una mayor actividad en el promotor que el alelo C, ya que este último parece permitir la unión preferencial de una proteína represora⁸⁹. Con respecto a este polimorfismo, Blankenberg, et al. encontraron que, en pacientes con enfermedad cardiovascular preexistente, el alelo -1562T se reflejaba en niveles plasmáticos de MMP-9 aumentados. Esta misma elevación de la concentración de MMP-9 se asoció a una menor supervivencia de los pacientes y a dos veces el riesgo de muerte relacionada con problemas cardiovasculares⁹⁰. Zhi, et al., tras estudiar este mismo polimorfismo en una población china, concluyen que: no se observaron efectos del polimorfismo en el riesgo de desarrollar EAC; en cambio, el alelo T se asoció con 2.53 veces más riesgo de desarrollar EAC en pacientes diabéticos ($p = 0.018$); en los casos ya diagnosticados con EAC el polimorfismo se relacionó con un mayor riesgo de IAM ($p = 0.048$). Así, en la población que estudiaron, los genotipos -1562 CT/TT pueden favorecer la EAC en pacientes diabéticos y el IAM en pacientes con EAC. Adicionalmente, este equipo estudió los polimorfismos R279Q, P574R y R668Q ubicados en distintos exones de *MMP-9* y describió que sus variantes pueden tener, en conjunto, un efecto protector sobre el desarrollo de la EAC, principalmente al tener los alelos 279R, 574R y 668Q⁹¹. En una población iraní mostró que los pacientes con el alelo T en la posición -1562 tienen mayor riesgo de desarrollar EAC de manera temprana⁹².

MMP-12

Nombres alternativos

Elastasa de macrófagos, metaloelastasa.

Locus

11q22.2-q22.3⁶⁴.

Función

La MMP-12 es una metaloproteinasa elastolítica secretada por macrófagos activados^{93,94}. Además de la elastina, esta MMP toma también como sustratos a FN, laminina, vitronectina, colágena IV y heparán sulfato^{95,96}. Al degradar los componentes de la ECM, la MMP-12 permite la diapédesis de los macrófagos durante la inflamación y, con esto, la consiguiente remodelación tisular⁶⁴. Cabe mencionar que los macrófagos espumosos en los bordes del centro lipídico acelular y las áreas fibrosas de las placas ateroscleróticas también expresan el gen de esta metaloelastasa^{68,97}.

Regulación

Souissi, et al. mostraron que la IL-1 β , molécula que se encuentra en grandes cantidades en las lesiones ateroscleróticas, aumenta la expresión de MMP-12 en macrófagos humanos derivados de monocitos. En este mismo estudio expusieron que, en presencia del agonista específico GW647 del receptor activado por proliferadores de peroxisomas α (PPAR- α), expresado en macrófagos, la transcripción de MMP-12 es regulada a la baja a pesar de la presencia de IL-1 β ⁹⁸.

Polimorfismos y sus consecuencias

Jormsjö S, et al. estudiaron un polimorfismo en la región promotora del gen de la MMP-12 en 367 pacientes a quienes se les había realizado una angiografía coronaria transluminal percutánea (PTCA) con implantación de *stent*. El polimorfismo en cuestión es una sustitución de adenina (A) a guanina (G) en la posición -82, donde el alelo A facilita la unión del factor de transcripción AP-1 y tiene, por lo tanto, una mayor actividad transcripcional *in vitro* en monocitos/macrófagos. Encontraron que el alelo A está asociado con un menor diámetro luminal de las arterias coronarias en pacientes con diabetes y EAC (que requiere PTCA con implantación de *stent*)⁹⁹ influyendo en su

pronóstico. Por su parte, Pérez-Hernández, et al. hallaron una asociación del mismo polimorfismo MMP-12-82 y la extensión de la EAC, teniendo 3.72 veces el riesgo de la enfermedad en pacientes con afectación en 2 a 3 vasos con los genotipos AG+GG, pues tienen disminuida la actividad del promotor de *MMP-12*⁴³.

MMP-13

Nombres alternativos

Colagenasa-3.

Locus

11q22.3⁶⁴.

Función

La MMP-13 es capaz de degradar las colágenas fibrilares (por ejemplo, la de tipo II), pero puede actuar también como gelatinasa y degradar una amplia gama de componentes de la ECM, como gelatinas, agregano, FN y osteonectina^{100,101}. Puede activar la MMP-9¹⁰².

Regulación

La expresión de MMP-13 se ve aumentada en respuesta a la IL-1 y al TNF- α ^{103,104}.

Polimorfismos y sus consecuencias

Yoon, et al.¹⁰⁵ tomaron casos del estudio PDAY (*Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in the Youth*), que caracterizó los cambios en las arterias coronarias y la aorta de individuos de 15-34 años de edad¹⁰⁶, y analizaron las placas de ateroma de la aorta abdominal, por ser la porción arterial más afectada en el mayor número de pacientes. Los datos recabados sobre las placas ateroscleróticas aórticas han sido de utilidad para el enfoque de esta revisión, ya que pueden estar relacionados con la aterosclerosis en las arterias coronarias por involucrar al mismo proceso. Encontraron una asociación significativa entre un SNP en la posición -77, correspondiente a una transición de adenina (A) a guanina (G), y el porcentaje de superficie con placa fibrótica en la aorta abdominal de hombres de raza negra. El alelo A resulta en una actividad transcripcional aumentada al doble en relación con el alelo G. El estudio indica que el alelo

G, y más específicamente el genotipo homocigoto G/G, podría implicar una extensión de más del doble de superficie de las placas fibróticas. Hay que resaltar que las diferencias en la expresión de MMP-13 derivadas del genotipo influyen sobre la cantidad de superficie afectada con placas fibróticas, y no sobre la aparición o no de estas¹⁰⁵.

MMP-14

Nombres alternativos

Metaloproteasa de matriz-1 de tipo membranal, MMP-X1.

Locus

14q11-q12⁶⁴.

Función

La MMP-14 es la metaloproteasa de membrana más estudiada. Es capaz de activar la pro-MMP-2 y la pro-MMP-13^{107,108}. De la ECM toma principalmente como sustratos las colágenas de tipo I, II y III, gelatinas, FN, lamininas 1 y 5, fibrina y proteoglicanos. Es una enzima que promueve la migración celular al actuar sobre moléculas de adhesión como la cadherina-E, el síndecano-1 y el CD44¹⁰⁹.

Regulación

La MT-MMP-1 es inhibida por los TIMP-2, 3 y 4 y por las moléculas proteína rica en cisteína, que induce la reversión con motivos Kazal (RECK) y N-Tes de forma similar. Además, la función de esta MMP es inhibida mediante endocitosis dependiente de clatrina o de caveolas¹¹⁰.

Polimorfismos y sus consecuencias

No se ha realizado ningún estudio sobre la relación entre los polimorfismos del gen *MMP-14* y el SICA. Sin embargo, Ray et al. estudiaron el papel del factor de transcripción SAF-1 en la inducción de MMP-14 mediada por lipoproteínas de baja densidad oxidadas (ox-LDL), IL-1 β y TNF- α en monocitos/macrófagos. Encontraron que SAF-1 es sobreexpresado en presencia de los factores anteriores y que actúa a través de la región promotora del gen de la metaloproteasa, uniéndose en algún punto entre las posiciones

-213 y -1 y aumentando así la síntesis de la enzima¹¹¹. Además, esta mayor expresión de MMP-14 resulta en un aumento de la actividad de otra enzima involucrada en el proceso aterosclerótico: la MMP-2, ya que, como se ha mencionado anteriormente, es activada por la MMP-14¹⁰⁷. De esta forma, y dado que hasta la fecha no hay estudios al respecto, resultaría interesante analizar la existencia de algún polimorfismo en la región de unión al SAF-1 y su asociación con el desarrollo de la aterosclerosis por medio de la regulación de MMP-14.

Conclusión

Según los estudios referidos en el presente trabajo, existe un gran número de variaciones en los genes de las distintas MMP que llevan a actividades variables de estas enzimas, repercutiendo en la cantidad y en la forma de la remodelación de la ECM. La consecuencia de esto es la predisposición de ciertos genotipos a desarrollar alguna manifestación del SICA, o a desarrollarla más gravemente, ya sea por la velocidad de formación de la placa aterosclerótica o por su extensión en los vasos coronarios. Los genes de las MMP han sido mapeados de los cromosomas 11, 14, 16, 20 y 22^{64,112}. Se ha mostrado que varios de los genes que codifican para las MMP están ubicados en regiones físicamente cercanas a nivel cromosómico. Efectivamente, el gen que codifica para la MMP-1 está estrechamente relacionado con los *loci* para las metaloproteinasas 3, 7, 8, 10, 12, 13, 20 y 27 en el cromosoma 11¹¹³. Por esta proximidad genética y porque, como se ha expuesto, ya han sido encontrados numerosos polimorfismos, sería de gran interés estudiar la frecuencia con que se presentan juntos en el mismo individuo, e incluso la relación entre el número de polimorfismos y el riesgo de desarrollar un SICA, al igual que las diferencias interpoblacionales de estos «patrones genéticos». Asimismo, podría ser llamativo conjuntar los polimorfismos en los genes de las MMP con aquellos en los genes de las moléculas inhibitoras, por ejemplo, de los TIMP. Por último, a pesar de todos los estudios ya realizados en este ámbito, queda aún mucho por investigar sobre la influencia que tienen los polimorfismos en la actividad de las MMP, el desarrollo de la placa aterosclerótica y la consecuente presentación de un SICA. El campo es amplio y, sin duda, una mejor identificación de los factores genéticos de riesgo para esta entidad clínica traerá, en un futuro próximo, excelentes herramientas para optimizar tanto la prevención como el pronóstico y tratamiento de los pacientes con los genotipos señalados.

Bibliografía

- Hernández-Leiva E. Epidemiology of acute coronary syndrome and heart failure in Latin America. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:34-43.
- Tyroler HA. Coronary heart disease epidemiology in the 21st century. *Epidemiol Rev*. 2000;22:7-13.
- Newby AC. Dual role of matrix metalloproteinase (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol Rev*. 2005;85:1-31.
- Herzog E, Gu A, Kohmoto T, Burkhoff D, Hochman JS. Early activation of metalloproteinases after experimental myocardial infarction occurs in infarct and non-infarct zones. *Cardiovasc Pathol*. 1998;7:307-12.
- Kalela A, Koivu TA, Sisto T, et al. Serum matrix metalloproteinase-9 concentration in angiographically assessed coronary artery disease. *Scand J Clin Lab Invest*. 2002;62:337-42.
- Uzui H, Harpf A, Liu M, et al. Increased expression of membrane type 3-matrix metalloproteinase in human atherosclerotic plaque: role of activated macrophages and inflammatory cytokines. *Circulation*. 2002;106:3024-30.
- Zeng B, Prasan A, Fung KC, et al. Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 and -2 in patients with symptomatic coronary artery disease. *Intern Med J*. 2005;35:331-5.
- Amălinei C, Căruntu ID, Bălan RA. Biology of metalloproteinases. *Rom J Morphol Embryol*. 2007;48:323-34.
- Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3:207-14.
- Tejido conjuntivo. En: Ross MH, Pawlina W, eds. *Histología: Texto y atlas color con biología celular y molecular*. 5.ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2009. p. 160-97.
- Mora-Solera JR, Manzur Conte AJ, Ramírez-Mora T, Silva-Herzog D. Papel de las metaloproteinasas de la matriz en la degradación del tejido pulpar: Una revisión literaria. *Rev Cient Odontol*. 2006;1:20-6.
- Butler GS, Overall CM. Updated biological roles for matrix metalloproteinases and new "intracellular" substrates revealed by degradomics. *Biochemistry*. 2009;48:10830-45.
- 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.
- Uría JA, Jiménez MG, Balbin M, Freije JM, López-Otin C. Differential effects of transforming growth factor-beta on the expression of collagenase-1 and collagenase-3 in human fibroblasts. *J Biol Chem*. 1998;273:9769-77.
- Jugdutt BI. Ventricular remodeling after infarction and the extracellular collagen matrix: when is enough enough? *Circulation*. 2003;108:1395-403.
- Guo H, Zucker S, Gordon MK, Toole BP, Biswas C. Stimulation of matrix metalloproteinase production by recombinant extracellular matrix metalloproteinase inducer from transfected Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem*. 1997;272:24-7.
- Sameshima T, Nabeshima K, Toole BP, et al. Glioma cell extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) (CD147) stimulates production of membrane-type matrix metalloproteinases and activated gelatinase A in co-cultures with brain-derived fibroblasts. *Cancer Lett*. 2000;157:177-84.
- Piperi C, Papavassiliou AG. Molecular mechanisms regulating matrix metalloproteinases. *Curr Top Med Chem*. 2012;12:1095-112.
- Brew K, Dinakarpandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1477:267-83.
- Corbel M, Boichot E, Lagente V. Role of gelatinases MMP-2 and MMP-9 in tissue remodeling following acute lung injury. *Braz J Med Biol Res*. 2000;33:749-54.
- Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases. Structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92:827-39.
- Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis. The good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 2002;90:251-62.
- Pardo A, Selman M. MMP-1: the elder of the family. *Int J Biochem Cell Biol*. 2005;37:283-8.
- Miura S, Ohno I, Suzuki J, et al. Inhibition of matrix metalloproteinases prevents cardiac hypertrophy induced by beta-adrenergic stimulation in rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2003;42:174-81.
- Vincenti MP, Brinckerhoff CE. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. *Arthritis Res*. 2002;4:157-64.
- Nishioka Y, Sagae S, Nishikawa A, Ishioka S, Kudo R. A relationship between matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) promoter polymorphism and cervical cancer progression. *Cancer Lett*. 2003;200:49-55.
- Woessner JF, Nagase H. *Matrix Metalloproteinases and TIMPs*. 1.ª ed. Nueva York: Oxford University Press; 2000.

28. White LA, Mitchel TI, Brinjerhoff CE. Transforming growth factor beta inhibitory element in the rabbit matrix metalloproteinase-1 (collagenase-1) gene functions as a repressor of constitutive transcription. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1490:259-68.
29. Suzuki K, Enghild JJ, Morodomi T, Salvesen G, Nagase H. Mechanisms of activation of tissue procollagenase by matrix metalloproteinase 3 (stromelysin). *Biochemistry*. 1990;29:10261-70.
30. Rutter JL, Mitchell TI, Buttice G, et al. A single nucleotide polymorphism in the matrix metalloproteinase-1 promoter creates an Ets binding site and augments transcription. *Cancer Research*. 1998;58:5321-5.
31. Pearce E, Tregouet DA, Samnegård A, et al. Haplotype effect of the matrix metalloproteinase-1 gene on risk of myocardial infarction. *Circ Res*. 2005;97:1070-6.
32. Chaudhary AK, Singh M, Bharti AC, Asotra K, Sundaram S, Mehrotra R. Genetic polymorphisms of matrix metalloproteinases and their inhibitors in potentially malignant and malignant lesions of the head and neck. *J Biomed Sci*. 2010;17:10.
33. Price SJ, Greaves DR, Watkins H. Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene. *J Biol Chem*. 2001;276:7549-58.
34. Cheung PY, Sawicki G, Wozniak M, Wang W, Radomski MW, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 contributes to ischemia-reperfusion injury in the heart. *Circulation*. 2000;101:1833-9.
35. Rouet-Benzineb P, Perennec J, Delcourt A, et al. Cardiac gelatinase expression and involvement in human dilated cardiomyopathy. *Circulation*. 1998;98:1-626.
36. Qin H, Sun Y, Benveniste EN. The transcription factors Sp1, Sp3, and AP-2 are required for constitutive matrix metalloproteinase-2 gene expression in astroglia cells. *J Biol Chem*. 1999;274:29130-7.
37. Kadonaga JT, Carner KR, Masiarz FR, Tjian R. Isolation of cDNA encoding transcription factor Sp1 and functional analysis of the DNA binding domain. *Cell*. 1987;51:1079-90.
38. Turner J, Crossley M. Mammalian Krüppel-like transcription factors: more than just a pretty finger. *Trends Biochem Sci*. 1999;24:236-40.
39. 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.
40. Armstrong C, Abilleira S, Sitzer M, Markus HS, Bevan S. Polymorphisms in MMP family and TIMP genes and carotid artery intima-media thickness. *Stroke*. 2007;38:2895-9.
41. Alp E, Menevse S, Tulmac M, Yilmaz A, Yalcin R, Cengel A. The role of matrix metalloproteinase-2 promoter polymorphisms in coronary artery disease and myocardial infarction. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2011;15:193-202.
42. Vasků A, Golbergová M, Hollá LI, et al. Two MMP-2 promoter polymorphisms (-790T/G and -735C/T) in chronic heart failure. *Clin Chem Lab Med*. 2003;41:1299-303.
43. Pérez-Hernández N, Vargas-Alarcón G, Martínez-Rodríguez N, Martínez-Ríos MA, Peña-Duque MA, Peña-Díaz A. Matrix metalloproteinase 2 -1575 gene polymorphism is associated with the risk of developing myocardial infarction in Mexican patients. *J Atheroscler Thromb*. 2012;19:718-27.
44. Delgado-Enciso I, González-Hernández NA, Baltazar-Rodríguez LM, et al. Association of matrix metalloproteinase-2 gene promoter polymorphism with myocardial infarction susceptibility in a Mexican population. *J Genet*. 2009;88:249-52.
45. Horne BD, Camp NJ, Carlquist JF, et al. Multiple-polymorphism associations of 7 matrix metalloproteinase and tissue inhibitor metalloproteinase genes with myocardial infarction and angiographic coronary artery disease. *Am Heart J*. 2007;154:751-8.
46. Samnegård A, Silveira A, Lundman P, et al. Serum matrix metalloproteinase-3 concentration is influenced by MMP-3 -1612 5A/6A promoter genotype and associated with myocardial infarction. *J Intern Med*. 2005;258:411-9.
47. Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *FASEB J*. 1991;5:2145-54.
48. Henney AM, Wakeley PR, Davies MJ, et al. Localization of stromelysin gene expression in atherosclerotic plaques by in situ hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1991;88:8154-8.
49. Sternlicht MD, Lochter A, Simpson CJ, et al. The stromal proteinase MMP3/stromelysin-1 promotes mammary carcinogenesis. *Cell*. 1999;98:137-46.
50. Buttice G, Quinones S, Kurkinen M. The AP-1 site is required for basal expression but is not necessary for TPA-response of the human stromelysin gene. *Nucleic Acids Res*. 1991;19:3723-31.
51. Quinones S, Saus J, Otani Y, Harris ED Jr, Kurkinen M. Transcriptional regulation of human stromelysin. *J Biol Chem*. 1989;264:8339-44.
52. Kerr LD, Holt JT, Matrisian LM. Growth factors regulate transin gene expression by c-fos-dependent and c-fos-independent pathways. *Science*. 1988;242:1424-7.
53. Imai K, Yokohama Y, Nakanishi I, et al. Matrix metalloproteinase 7 (matrilysin) from human rectal carcinoma cells. Activation of the precursor, interaction with other matrix metalloproteinases and enzymic properties. *J Biol Chem*. 1995;270:6691-7.
54. Lu PC, Ye H, Maeda M, Azar DT. Immunolocalization and gene expression of matrilysin during corneal wound healing. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1999;40:20-7.
55. Ye S, Watts GF, Mandalia S, Humphries SE, Henney AM. Preliminary report: genetic variation in the human stromelysin promoter is associated with progression of coronary atherosclerosis. *Br Heart J*. 1995;73:209-15.
56. Beyzade S, Zhang S, Wong YK, Day IN, Eriksson P, Ye S. Influences of matrix metalloproteinase-3 gene variation on extent of coronary atherosclerosis and risk of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:2130-7.
57. Terashima M, Akita H, Kanazawa K, et al. Stromelysin promoter 5A/6A polymorphism is associated with acute myocardial infarction. *Circulation*. 1999;99:2717-9.
58. Liu PY, Chen JH, Li YH, Wu HL, Shi GY. Synergistic effect of stromelysin-1 (matrix metalloproteinase-3) promoter 5A/6A polymorphism with smoking on the onset of young acute myocardial infarction. *Thromb Haemost*. 2003;90:132-9.
59. Humphries SE, Martin S, Cooper J, Miller G. Interaction between smoking and the stromelysin-1 (MMP3) gene 5A/6A promoter polymorphism and risk of coronary heart disease in healthy men. *Ann Hum Genet*. 2002;66:343-52.
60. Liu PY, Li YH, Tsai WC, et al. Stromelysin-1 promoter 5A/6A polymorphism is an independent genetic prognostic risk factor and interacts with smoking cessation after index premature myocardial infarction. *J Thromb Haemost*. 2005;3:1998-2005.
61. Zhou X, Huang J, Chen J, Su S, Chen R, Gu D. Haplotype analysis of the matrix metalloproteinase 3 gene and myocardial infarction in a Chinese Han population. The Beijing atherosclerosis study. *Thromb Haemost*. 2004;92:867-73.
62. 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;347:1916-23.
63. Nojiri T, Morita H, Imai Y, et al. Genetic variations of matrix metalloproteinase-1 and -3 promoter regions and their associations with susceptibility to myocardial infarction in Japanese. *Int J Cardiol*. 2003;92:181-6.
64. Kukačka J, Průša R, Kotaška K, Pelouch V. Matrix metalloproteinases and their function in myocardium. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2005;149:225-36.
65. Quantin B, Murphy G, Breathnach R. Pump-1 cDNA codes for a protein with characteristics similar to those of classical collagenase family members. *Biochemistry*. 1989;28:5327-34.
66. Jörnsjö S, Whatling C, Walter DH, Zeiher AM, Hamsten A, Eriksson P. Allele-specific regulation of matrix metalloproteinase-7 promoter activity is associated with coronary artery luminal dimensions among hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1834-9.
67. Dozier S, Escobar GP, Lindsey ML. Matrix metalloproteinase (MMP)-7 activates MMP-8 but not MMP-13. *Med Chem*. 2006;2:523-6.
68. Halpert I, Sires UI, Roby JD, et al. Matrilysin is expressed by lipid-laden macrophages at sites of potential rupture in atherosclerotic lesions and localizes to areas of versican deposition, a proteoglycan substrate for the enzyme. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:9748-53.
69. Shi M, Liu D, Duan H, et al. Catecholamine up-regulates MMP-7 expression by activating AP-1 and STAT3 in gastric cancer. *Mol Cancer*. 2010;9:269.
70. Pendas AM, Matilla T, Estivill X, López-Otín C. The human collagenase-3 (CLG-3) gene is located on chromosome 11q22.3 clustered to other members of the matrix metalloproteinase gene family. *Genomics*. 1995;26:615-8.
71. Van Lint P, Libert C. Matrix metalloproteinase-8: cleavage can be decisive. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2006;17:217-23.
72. Alfakry H, Sinisalo J, Paju S, et al. The association of serum neutrophil markers and acute coronary syndrome. *Scand J Immunol*. 2012;76:181-7.
73. Pussinen PJ, Sarna S, Puolakkainen M, Ohlin H, Sorsa T, Pesonen E. The balance of serum matrix metalloproteinase-8 and its tissue inhibitor in acute coronary syndrome and its recurrence. *Int J Cardiol*. 2013;167(2):362-8.
74. Pradhan-Palikhe P, Pussinen PJ, Vikatmaa P, et al. Single nucleotide polymorphism -799C/T in matrix metalloproteinase-8 promoter region in arterial disease. *Innate Immun*. 2012;18:511-7.
75. Wang WF, Wang F, Zhu M, et al. [Association between matrix metalloproteinase-8 -799C/T polymorphism and instability of carotid plaque]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2012;29:60-3.
76. Djurić T, Stanković A, Končar I, et al. Association of MMP-8 promoter gene polymorphisms with carotid atherosclerosis: preliminary study. *Atherosclerosis*. 2011;219:673-8.
77. Laxton RC, Hu Y, Duchene J, et al. A role of matrix metalloproteinase-8 in atherosclerosis. *Circ Res*. 2009;105:921-9.
78. Kiehl S, Willeit J. The natural course of atherosclerosis. Part I: incidence and progression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:1484-90.

79. Kiechl S, Willeit J. The natural course of atherosclerosis. Part II: vascular remodeling. Bruneck Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:1491-8.
80. Newby AC. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture. *Physiol Rev.* 2005;85:1-31.
81. Genersch E, Hayess K, Neuenfeld Y, Haller H. Sustained ERK phosphorylation is necessary but not sufficient for MMP-9 regulation in endothelial cells: involvement of Ras-dependent and -independent pathways. *J Cell Sci.* 2000;113:4319-30.
82. Ueda L, Matsushima K. Stimulation of plasminogen activator activity and matrix metalloproteinases of human dental pulp-derived cells by tumor necrosis factor- α . *J Endod.* 2001;27:175-9.
83. Vaday GG, Schor H, Rahat MA, Lahat N, Lider O. Transforming growth factor- β suppresses tumor necrosis factor α -induced matrix metalloproteinase-9 expression in monocytes. *J Leukoc Biol.* 2001;69:613-21.
84. Brown DL, Hibbs MS, Kearney M, Loushin C, Isner JM. Identification of 92-kD gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions. Association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation.* 1995;91:2125-31.
85. Noji Y, Kajinami K, Kawashiri MA, et al. Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in premature coronary atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med.* 2001;39:380-4.
86. Yasmin, McEniery CM, Wallace S, 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.
87. Tayebjee MH, Lip GY, Tan KT, Patel JV, Hughes EA, MacFadyen RJ. Plasma matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-2, and CD40 ligand levels in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol.* 2005;96:339-45.
88. Marx N, Froehlich J, Siam L, et al. Antidiabetic PPAR γ -activator rosiglitazone reduces MMP-9 serum levels in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:283-8.
89. Zhang B, Ye S, Herrmann SM, et al. Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis. *Circulation.* 1999;99:1788-94.
90. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation.* 2003;107:1579-85.
91. 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.
92. Saeedi M, Vaisi-Raygani 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;39:555-62.
93. Shapiro SD, Kobayashi DK, Ley TJ. Cloning and characterization of a unique elastolytic metalloproteinase produced by human alveolar macrophages. *J Biol Chem.* 1993;268:23824-9.
94. Belaouaj A, Shipley JM, Kobayashi DK, et al. Human macrophage metalloelastase: genomic organization, chromosomal location, gene linkage, and tissue-specific expression. *J Biol Chem.* 1995;270:14568-75.
95. Chandler S, Cossins J, Lury J, Wells G. Macrophage metalloelastase degrades matrix and myelin proteins and processes a tumour necrosis factor- α fusion protein. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;228:421-9.
96. Gronski TJ Jr, Martin RL, Kobayashi DK, et al. Hydrolysis of a broad spectrum of extracellular matrix proteins by human macrophage elastase. *J Biol Chem.* 1997;272:12189-94.
97. Rajavashisth TB, Xu XP, Jovinge S, et al. Membrane type 1 matrix metalloproteinase expression in human atherosclerotic plaques: evidence for activation by proinflammatory mediators. *Circulation.* 1999;99:3103-9.
98. Souissi IJ, Billiet L, Cuaz-Pérolin C, Slimane MN, Rouis M. Matrix metalloproteinase-12 gene regulation by a PPAR α agonist in human monocyte-derived macrophages. *Exp Cell Res.* 2008;314:3405-14.
99. Jormsjö S, Ye S, Moritz J, et al. Allele-specific regulation of matrix metalloproteinase-12 gene activity is associated with coronary artery luminal dimensions in diabetic patients with manifest coronary artery disease. *Circ Res.* 2000;86:998-1003.
100. Tardif G, Reboul P, Pelletier JP, Martel-Pelletier J. Ten years in the life of an enzyme: the story of the human MMP-13 (collagenase-3). *Mod Rheumatol.* 2004;14:197-204.
101. Ashworth JL, Murphy G, Rock MJ, et al. Fibrillin degradation by matrix metalloproteinases: implications for connective tissue remodelling. *Biochem J.* 1999;340:171-81.
102. Nannuru KC, Futakuchi M, Varney ML, Vincent TM, Marcusson EG, Singh RK. Matrix metalloproteinase (MMP)-13 regulates mammary tumor-induced osteolysis by activating MMP9 and transforming growth factor- β signaling at the tumor-bone interface. *Cancer Res.* 2010;70:3494-504.
103. Mitchell PG, Magna HA, Reeves LM, et al. Cloning, expression, and type II collagenolytic activity of matrix metalloproteinase-13 from human osteoarthritic cartilage. *J Clin Invest.* 1996;97:761-8.
104. Vincenti MP, Brinckerhoff CE. Transcriptional regulation of collagenase (MMP-1, MMP-13) genes in arthritis: integration of complex signaling pathways for the recruitment of gene-specific transcription factors. *Arthritis Res.* 2002;4:157-64.
105. Yoon S, Kuivaniemi H, Gatalica Z, et al. MMP13 promoter polymorphism is associated with atherosclerosis in the abdominal aorta of young black males. *Matrix Biol.* 2002;21:487-98.
106. McGill HC Jr, McMahan CA, Gidding SS. Preventing heart disease in the 21st century: implications of the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) study. *Circulation.* 2008;117:1216-27.
107. Hayashi K, Horikoshi S, Osada S, Shofuda K, Shirato I, Tomino Y. Macrophage-derived MT1-MMP and increased MMP-2 activity are associated with glomerular damage in crescentic glomerulonephritis. *J Pathol.* 2000;191:299-305.
108. Knäuper V, Will H, López-Otin C, et al. Cellular mechanisms for human procollagenase-3 (MMP-13) activation. Evidence that MT1-MMP (MMP-14) and gelatinase a (MMP-2) are able to generate active enzyme. *J Biol Chem.* 1996;271:17124-31.
109. Cao J, Kozarekar P, Pavlaki M, Chiarelli C, Bahou WF, Zucker S. Distinct roles for the catalytic and hemopexin domains of membrane type 1-matrix metalloproteinase in substrate degradation and cell migration. *J Biol Chem.* 2004;279:14129-39.
110. Miki T, Takegami Y, Okawa K, Muraguchi T, Noda M, Takahashi C. The reversion-inducing cysteine-rich protein with Kazal motifs (RECK) interacts with membrane type 1 matrix metalloproteinase and CD13/aminopeptidase N and modulates their endocytic pathways. *J Biol Chem.* 2007;282:12341-52.
111. Ray BK, Shukla A, Turk JR, Apte SS, Ray A. Induction of the MMP-14 gene in macrophages of the atherosclerotic plaque: role of SAF-1 in the induction process. *Circ Res.* 2004;95:1082-90.
112. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J.* 1998;12:1075-95.
113. Pendás AM, Santamaría I, Alvarez MV, Pritchard M, López-Otin C. Fine physical mapping of the human matrix metalloproteinase genes clustered on chromosome 11q22.3. *Genomics.* 1996;37:266-8.
114. Ranganathan AC, Nelson KK, Rodriguez AM, et al. Manganese superoxide dismutase signals matrix metalloproteinase expression via H₂O₂ - dependent ERK1/2 activation. *J Biol Chem.* 2001;276:14264-70.
115. Ye S, Gale CR, Martyn CN. Variation in the Matrix Metalloproteinase-1 gene and risk of coronary heart disease. *Eur Heart J.* 2003;24:1668-71.
116. Ye S, Ericksson P, Hamsten A, Kurkinen M, Humphries SE, Henney AM. Progression of coronary atherosclerosis is associated with a common genetic variant of the human stromelysin-1 promoter which results in reduced gene expression. *J Biol Chem.* 1996;272:13055-60.
117. Ye S, Whatling C, Watkins H, Henney A. Human stromelysin gene promoter activity is modulated by transcription factor ZBP-89. *FEBS Lett.* 1999;450:268-72.
118. Morgan AR, Zhang B, Tapper W, Collins A, Ye S. Haplotype analysis of the MMP-9 gene in relation to coronary artery disease. *J Mol Med.* 2003;81:321-6.
119. Pöllänen PJ, Karhunen PJ, Mikkelsen J, et al. Coronary artery complicated lesion area is related to functional polymorphism of matrix metalloproteinase 9 gene: an autopsy study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001;21:1446-50.
120. Jones GT, Phillips VL, Harris EL, Rossaak J, van Rij AM. Functional matrix metalloproteinase-9 polymorphism (C-1562T) associated with abdominal aortic aneurism. *J Vasc Surg.* 2003;38:1363-7.