

## INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial sistémica afecta cerca del 20% de la población adulta de la mayoría de los países y es la primera causa de morbilidad. Las personas con hipertensión arterial (HTA) tienen de dos a cuatro veces más riesgo de presentar enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular e insuficiencia renal, razón por la cual, controlar la HTA significa mejorar la expectativa de vida en la edad adulta, su calidad y una ganancia de años de vida saludable<sup>1</sup>.

En el municipio de Armenia, Quindío, la enfermedad hipertensiva, ocupó el primer lugar por mortalidad específica debida a enfermedades crónicas con una tasa de 13,02 por 100.000 habitantes en el año 2007 y tuvo un incremento a 19,6 en el año 2008<sup>2,3</sup>.

Una de las causas de HTA es el aumento de la resistencia vascular sistémica (RVS), la cual es un indicador del aumento del depósito de colágeno, fibrina y otras proteínas fibrilares en la matriz extracelular vascular<sup>4</sup>. La matriz extracelular (MEC) en los seres humanos representa una red tridimensional que engloba todos los órganos, tejidos y células del organismo. Constituye un filtro biofísico de protección, nutrición e inervación celular y el terreno para la respuesta inmune, angiogénesis, fibrosis y regeneración tisular<sup>5</sup>. La MEC está siendo remodelada constantemente y las metaloproteinasas de la MEC (MMP) son una familia de endopeptidasas que hidrolizan los constituyentes de la misma. Las MMP2 y MMP9 son enzimas de remodelación de la MEC, que se encuentran bajas en la HTA y aumentan hasta niveles similares al normal en respuesta al tratamiento antihipertensivo. Sin embargo, en pacientes con aumento de la RVS, las MMP no se aumentan de la misma manera<sup>6</sup>.

Otra causa de la HTA es la dislipidemia, caracterizada por altos niveles de colesterol total (CT) y de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y bajos niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL), que conducen a la aterosclerosis y colaboran al aumento de la RVS y la hipertensión arterial. El aumento de las HDL se ha considerado como un factor protector en la HTA y en la enfermedad cardiovascular (ECV)<sup>7</sup>. Así mismo, las subfracciones de las HDL tienen un poder predictivo mayor que la cantidad total presente en plasma, porque expresan cambios en la capacidad de transporte reverso de colesterol (un mecanismo por el cual el exceso de colesterol regresa al hígado para ser eliminado), por lo cual las subfracciones de HDL se constituyen en un indicador de riesgo cardiovascular que se modifica en relación con otros factores asociados al estilo de vida<sup>8</sup>.

En el Departamento del Quindío, estudios previos han identificado bajos niveles de HDL en personas hipertensas y sus familiares, quienes se constituyen en población a riesgo al disminuir su capacidad de protección contra la HTA<sup>9</sup>.

Algunos miembros de las familias de las MMP (MMP3, MMP7 y MMP12) pueden remodelar las subpoblaciones de las HDL, específicamente HDL3, a través de la modificación proteolítica de la ApoA-I, la principal apoproteína de esta subpoblación, impidiéndole cumplir con su función receptora de colesterol proveniente de las células<sup>10</sup>. Otros estudios muestran que la metaloproteinasa de membrana 1 (MT1-MMP), un activador de la pro-MMP2, se expresa en células musculares lisas y en macrófagos en las placas ateroscleróticas humanas y que moléculas proinflamatorias aumentan la expresión de MT1-MMP a nivel vascular y esta activación, puede influenciar la remodelación del MEC en la aterosclerosis<sup>11,12</sup>. También se ha demostrado que formas purificadas de apo A-I y apoE, son hidrolizadas in vitro por la MT1-MMP (ó MMP14)<sup>13</sup>.

Dado que las MMP2 y MMP9 están involucradas en la remodelación de la MEC en la HTA, en el presente trabajo se propuso investigar el efecto del ejercicio físico sobre la apoA-I, las subfracciones HDL2 y HDL3 y, las MMP2 y MMP9 en pacientes hipertensos y responder las siguientes preguntas:

- Modifica el ejercicio físico los niveles de las subfracciones HDL2 y HDL3?
- Modifica el ejercicio físico la concentración de las MMP2 y MMP9, en suero?
- La modificación de las subfracciones de HDL2 y HDL3 está relacionada con la modificación de las MMP2 y MMP9 debido al ejercicio?

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades cardiovasculares y entre ellas la hipertensión arterial, constituyen un problema de salud pública mundial y un importante factor de riesgo de morbilidad y mortalidad cardiovascular<sup>14,15</sup>; en el municipio de Armenia - Quindío y en Colombia, se identifica como la primera causa de muerte por enfermedades crónicas<sup>1-3,16</sup>. Entre los tratamientos de elección para ella, además de los medicamentos antihipertensivos, está la prescripción de ejercicio físico. Esto se debe a que el ejercicio ha demostrado regular una serie de procesos fisiológicos a través de diversos mecanismos que conllevan a la normalización de las cifras tensionales<sup>17</sup>. Entre estos mecanismos fisiológicos se encuentran la elevación del colesterol en HDL, las cuales han demostrado ejercer un efecto protector contra las enfermedades cardiovasculares (ECV)<sup>18</sup>. Sin embargo, estudios en población japonesa muestran un elevado porcentaje de ECV a pesar de altos niveles de HDL<sup>19</sup>, esto sugiere que no sólo es importante un aumento en la concentración total de las HDL sino en el tipo de las subpoblaciones o subfracciones que las componen<sup>7</sup>.

Por otro lado, estudios realizados en población sana o con ECV en el Quindío<sup>9</sup>, han descrito que las HDL se encuentran por debajo de los niveles reconocidos como normales, según estándares americanos<sup>20</sup>, esto podría explicar en parte la alta prevalencia de HTA y ECV hallados en la población colombiana.

Sin embargo y hasta donde se conoce públicamente, no se han descrito estudios que traten de explicar los mecanismos por los cuales las HDL son bajas en la población, ni caracterizado las subpoblaciones de HDL y su relación con la HTA; todas estas son razones que justifican llevar a cabo esta investigación.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. HIPERTENSIÓN ARTERIAL, RIESGO CARDIOVASCULAR Y EJERCICIO FÍSICO.

La HTA afecta cerca del 20% de la población adulta a nivel mundial, es la primera causa de mortalidad y es el factor de riesgo más importante para la enfermedad cardiocerebrovascular<sup>14</sup>. La HTA se convierte en una de las primeras causas de mortalidad debido a que va acompañada de alteraciones funcionales. Algunos de los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en su génesis y su efecto sobre el organismo son: disfunción endotelial, alteración del sistema nervioso simpático, disfunción del sistema renina-angiotensina, mecanismos renales y cambios estructurales en el sistema cardiovascular, que finalmente llevan a la muerte<sup>1</sup>.

Los beneficios del ejercicio físico en la prevención y control de las enfermedades cardiovasculares y específicamente en la hipertensión han sido ampliamente difundidos<sup>21</sup>. De hecho una de las formas de tratamiento de la hipertensión arterial es el ejercicio físico, basado en la actividad aeróbica. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y otros autores han propuesto que es necesario llevar a cabo una práctica física regular de al menos 150 minutos semanales, en sesiones de tres a cinco veces por semana, como parte de un tratamiento médico compatible con una reducción de las cifras tensionales<sup>22-24</sup>. Varios mecanismos fisiológicos en relación con el ejercicio pueden ser responsables de la reducción del riesgo de enfermedad o muerte por enfermedad cardiovascular, por ejemplo, el ejercicio físico mejora la composición corporal, el perfil lipídico, la sensibilidad a la insulina, los niveles de glucosa, disminuye la presión sistólica y diastólica, mejora la función endotelial y la inflamación entre otros<sup>24</sup>. Uno de los mecanismos por los cuales el ejercicio reduce el riesgo cardiovascular

implica la elevación de las HDL; sin embargo y en aparente contradicción, otros estudios indican que algunas poblaciones con altos niveles de HDL, tienen riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares<sup>19</sup>, esta aparente contradicción generó la necesidad de investigar sobre la calidad (composición y conformación) de las HDL y no sólo su cantidad, lo cual en la última década ha direccionado los estudios hacia el análisis de las subpoblaciones que forman las HDL totales, su estructura y función en la fisiología normal y en la enfermedad cardiovascular así como los posibles agentes o procesos que las modifican<sup>8</sup>.

## **2.2. LAS LIPOPROTEÍNAS**

### **2.2.1. Estructura y función de las lipoproteínas**

“Las lipoproteínas son macromoléculas que estructuralmente están formadas por una parte lipídica y una proteica, cuya función es transportar los lípidos insolubles en el plasma proveniente de los alimentos (transporte exógeno) y los sintetizados por nuestro organismo (transporte endógeno), que son transportados desde el intestino y el hígado a los tejidos periféricos y viceversa; el regreso del colesterol al hígado para su eliminación del organismo en forma de ácidos biliares se conoce como el transporte reverso de colesterol”<sup>25</sup>.

“Las lipoproteínas se diferencian entre sí por la distinta proporción de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos que contienen así como por las distintas apoproteínas integradas en su estructura” (figura 1).

## ESTRUCTURA DE APOLIPOPROTEINAS

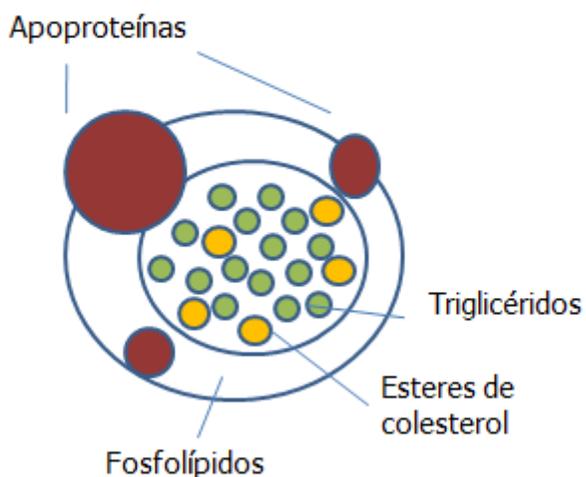


Figura 1. Estructura y composición de las Lipoproteínas. Nieto OA 2012.

“Las lipoproteínas se clasifican según su densidad en: Quilomicrones, VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), IDL (lipoproteínas de densidad intermedia), LDL (lipoproteínas de baja densidad) y HDL (lipoproteínas de alta densidad). Son partículas esféricas, de un tamaño menor que los hematíes y sólo son visibles al microscopio electrónico. En su parte lipídica encontramos colesterol esterificado y no esterificado, triglicéridos y fosfolípidos y en la parte proteica a las apolipoproteínas”<sup>25</sup>.

**El colesterol** es una molécula esencial para nuestro organismo, está presente en todas las células formando parte de las membranas celulares y en el sistema nervioso central. En la piel y por acción de la radiación ultravioleta de los rayos solares se transforma en vitamina D. Es precursor de hormonas esteroideas (progesterona, estrógeno, testosterona y corticoesteroides)<sup>25</sup>.

“La mayor parte de la grasa ingerida se halla en forma de triglicéridos que en la luz intestinal son hidrolizados a ácidos grasos y glicerol. Los ácidos grasos de cadena menor a 12 átomos de carbono circulan en la sangre unidos a la albúmina y los ácidos grasos de cadena larga son esterificados rápidamente y convertidos en triglicéridos y se transportan dentro de las lipoproteínas en el núcleo junto al colesterol”<sup>25</sup>.

“Los **fosfolípidos** se encuentran más superficialmente formando una monocapa lipídica”<sup>25</sup>.

### **2.2.2. Las HDL : Lipoproteínas de alta densidad**

**Las HDL**, se sintetizan en el hígado y el intestino y su síntesis empieza con la apoA-I, la cual es secretada pobre en lípidos, pero vía la proteína de unión a ATP (trifosfato de adenosina) clase A, tipo 1 (ABCA1) recluta colesterol libre y fosfolípidos, formando las HDL nacientes, la cual adquiere mas lípidos de los tejidos periféricos. La enzima lecitin: colesterol acil transferasa (LCAT) genera esterificación del colesterol formando las HDL maduras. Después interviene la proteína transportadora de ésteres de colesterol (CETP) logrando que se de un intercambio entre ésteres de colesterol (CE) y triglicéridos (TG) entre las HDL y las LDL y VLDL<sup>26</sup>. La apoA-I es un ligando para el receptor basurero clase B, tipo 1 (SR-BI) y su afinidad con este receptor incrementa el tamaño de las partículas HDL por adición de lípidos<sup>26</sup>; si este receptor está ubicado en el hepatocito el efecto es contrario: el SR-BI disminuye el tamaño de las HDL, pues allí está envuelto en el transporte selectivo de ésteres de colesterol desde las HDL hacia el hepatocito<sup>27</sup>.

### **Apolipoproteínas A: apoA.**

Las **apolipoproteínas** tienen la función de mantener la estructura de la lipoproteína y regular el metabolismo y el transporte de las mismas. Fueron denominadas en un orden alfabético arbitrario en apoA, apoB, apo C, apo D, apo E, apoJ, apoL, apoM<sup>28</sup>. Las apoA: A-I, A-II y A-IV, se encuentran sobre todo en las HDL, pero también en los quilomicrones y VLDL. Desempeñan un papel clave en el mantenimiento de la integridad de las partículas de HDL, además activan la enzima de LCAT que esterifica el colesterol plasmático libre<sup>28,29</sup>.

Las mayores apoproteínas de las HDL son la apoA-I y la apoA-II y ambas se requieren para la síntesis normal de HDL. La apoA-I constituye aproximadamente el 70% de HDL y la apoA-II el 20% y están presentes virtualmente en todas las partículas de HDL; bajos niveles de HDL, se han asociado a la delección del gen APOAI en ratones<sup>29</sup> y a la ausencia de la apo A-I en plasma en seres humanos<sup>30</sup>.

Las concentraciones plasmáticas de apoA-I están muy relacionadas con las concentración del colesterol-HDL (C-HDL); la elevación hepática de la apoA-I eleva significativamente los niveles de C-HDL, e inhibe la progresión de aterosclerosis en ratones, por eso el aumento de la apoA-I es considerada como una de las terapias más promisorias en relación con las HDL<sup>31</sup>.

### **Subfracciones de HDL**

Las subfracciones de HDL pueden ser separadas por diferentes técnicas con base en sus propiedades fisicoquímicas o su composición y pueden clasificarse por tamaño decreciente en HDL2b, HDL2a, HDL3a, HDL3b y HDL3c (figura 2), mediante electroforesis en dos dimensiones y un gel de poliacrilamida no desnaturizante, densitometría y ultracentrifugación<sup>32</sup>. Por precipitación selectiva las HDL pueden clasificarse en HDL2 y HDL3<sup>33</sup>. Además, por migración electroforética se han diferenciado en pre- $\beta$ , que

corresponden a las HDL nacientes y  $\alpha$ -HDL, que corresponden a las HDL maduras. Todas estas estrategias reconocen la existencia de subfracciones de HDL de diferentes tamaños y densidades, que pueden tener diferentes propiedades en el desarrollo de la aterosclerosis<sup>34-36</sup>. Cada una de estas partículas tiene diferentes funciones en el transporte y metabolismo del colesterol y los triglicéridos y por lo tanto a cada una de ellas se les ha asociado relaciones de beneficio o riesgo con las ECV, dependiendo si están aumentadas o disminuidas o de su composición en apoA o en lípidos componentes<sup>35</sup>.

## TAMAÑO DE LAS FRACCIONES DE HDL

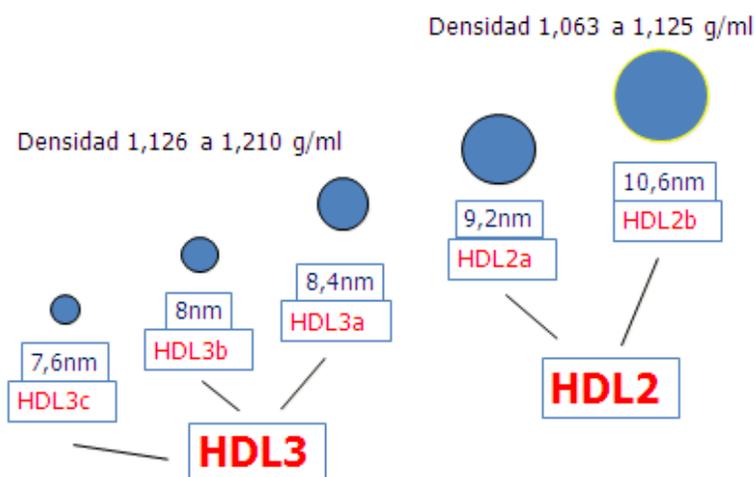


Figura 2. Tamaño y densidad de las subfracciones de las HDL. Nieto OA 2012.

Con base en la ultracentrifugación, las HDL se definen como proteínas con densidades entre 1,063 y 1,21 g/mL. La ultracentrifugación puede disociar la apoE, apoA-I y apoA-IV desde las lipoproteínas. La pérdida de apoA-I es mayor desde las HDL2, que desde las HDL3<sup>32</sup>.

### 2.2.3. Metabolismo de las HDL y transporte reverso del colesterol (TRC)

“Los principales pasos en el metabolismo de las HDL son: i) la Apolipoproteína A-I (apoA-I) se sintetiza y es parcialmente lipídada (HDL pre- $\beta$ ), ii) la cual es lipídada posteriormente con fosfolípidos y colesterol por la proteína ABCA1 en el hígado y otros tejidos hasta partículas  $\alpha$ -HDL discoidales que remueven colesterol de los tejidos. Adicionalmente ocurre difusión pasiva de colesterol desde las células a la superficie de las HDL posiblemente por acción de ABCG1, que remueve más colesterol de los tejidos. iii) En el plasma la LCAT convierte el colesterol en ésteres de colesterol, los cuales se mueven al centro de las partículas convirtiendo las HDL discoidales en partículas esféricas. iv) La CETP, asociada con las HDL media el intercambio de CE de las HDL a las VLDL y LDL en intercambio por triglicéridos. Adicionalmente lípidos y proteínas de la superficie son transferidos a las HDL durante la hidrólisis de quilomicrones y VLDL en la circulación. v) Las HDL interactúan en el hepatocito con el SR-BI, el cual selectivamente toma CE y otros lípidos de HDL, el colesterol tomado de las HDL es preferencialmente excretado por la bilis. vi) Las HDL también son digeridas en el hepatocito por la lipasa hepática (HL), la cual hidroliza fosfolípidos y triglicéridos, elevando las HDL pequeñas y pobres en lípidos y la apoA-I que puede recircular en la vía (figura 3). La vía de retorno del colesterol de los tejidos a través de las HDL se conoce como el transporte reverso del colesterol”<sup>36</sup>.

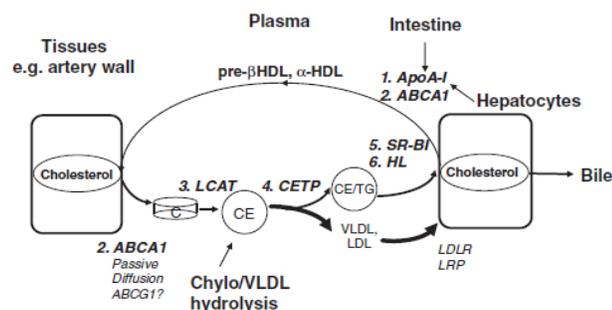


Figura 3. Metabolismo de las HDL. Gordon A. F. 2010<sup>36</sup>.

## Relación e interconversión de las subfracciones de HDL

La apoproteína pobre en lípidos (apoA-I), interactúa con la proteína ABCA1 (localizada en los macrófagos y otros tejidos), que transporta el colesterol libre a las HDL pobres en lípidos. La lipidación de las HDL, se da a través de la LCAT (figura 4), que esterifica el colesterol libre en las HDL para producir HDL maduras: HDL<sub>3</sub> (pequeña y más densa) y HDL<sub>2</sub> (grande y menos densa). Las HDL maduras también pueden tomar colesterol libre vía ATP por el transportador G1 de macrófagos (ABCG1)<sup>26</sup>.

Las HDL maduras tienen 2 destinos metabólicos. En la vía directa los ésteres de colesterol contenidos en las HDL se someten a captación selectiva por hepatocitos y glándulas suprarrenales, vía SR-BI, con la subsecuente excreción biliar ó síntesis de hormonas esteroideas, respectivamente. En la vía indirecta los ésteres de colesterol en las HDL pueden ser intercambiados por TG en las LDL y VLDL, partículas ricas en ApoB, a través de la acción de la CETP. La subsecuente captación de ApoB rica en ésteres de colesterol por los receptores hepáticos de LDL puede ser responsable de un 50% del transporte reverso del colesterol<sup>26</sup>.

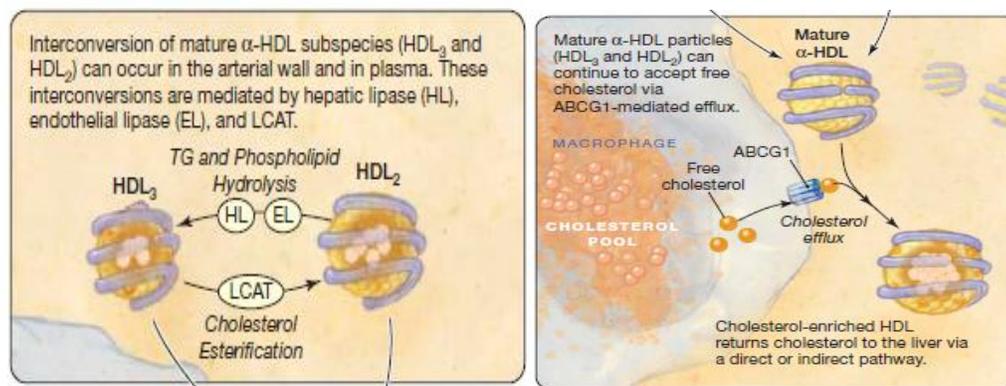


Figura 4. Interconversión de las HDL maduras. Inder M. Singh. 2007<sup>26</sup>.

## Vías de eflujo de colesterol desde los macrófagos

Los macrófagos, las células más importantes en el transporte reverso del colesterol desde el punto de vista de la aterosclerosis, casi no contribuyen a la masa de colesterol de HDL<sup>28</sup> (figura 5).

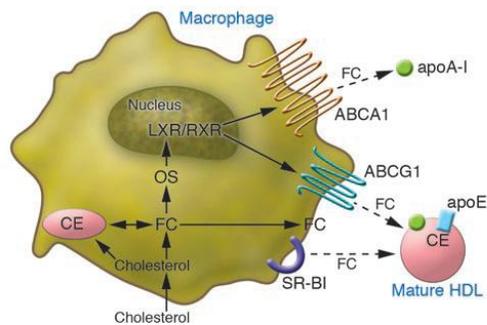


Figura 5. Vías de eflujo del colesterol de los macrófagos. 2006. Daniel J. Rader<sup>28</sup>.

## **2.3. LAS METALOPROTEINASAS DE LA MATRIZ EXTRACELULAR – MMP**

### **2.3.1. Clasificación y nomenclatura**

El término metaloproteinasas incluye un grupo de exopeptidasas y endopeptidasas envueltas en muchos procesos biológicos como la morfogénesis, metabolismo de péptidos y hormonas, desarrollo y regulación del ciclo celular, proliferación migración, adhesión, metabolismo de antibióticos<sup>37</sup> y en otros procesos fisiopatológicos como son el transporte de colesterol de las LDL y HDL en la placa aterosclerótica, en las células espumosas y en los macrófagos<sup>11,12,38</sup>.

Las MMP fueron descubiertas inicialmente en 1962 por su actividad colagenolítica en la matriz extracelular, generando degradación de proteínas que requerían ser reabsorbidas en la cola de renacuajos (Gross y Lapiere, 1962). Desde entonces se han incluido 28 miembros de esta familia, que han sido clasificadas, basándose en la habilidad para degradar varias proteínas de la MEC<sup>38</sup>.

Se han identificado aproximadamente 159 metaloproteinasas (MP), de las cuales 28 son específicas de la matriz (MMP). Trabajos recientes han generado una nomenclatura unificada de las peptidasas y en la actualidad se tiende más a la clasificación estructural<sup>38</sup>.

Las MMP tienen designación numérica desde la MMP-1 a la MMP-28 y una clasificación arquetípica, basada en los sustratos que proteolizan en la MEC. Esta clasificación incluye las colagenasas (MMP 1,8 y 13), estromelinas (MMP3 y 10), matrilisinas (MMP7 y 26), de membrana (MT-1MMP a MT-8MMP) y gelatinasas (MMP2 o gelatinasa A y MMP9 o gelatinasa B)<sup>38</sup>.

“En la base de datos MEROPS (<http://merops.sanger.ac.uk/>), las proteasas se agrupan en 14 diferentes clanes llamados MA, MC, MD, ME, MJ, MK, MM,

MN, MO, MP (que requieren una metilación catalítica) y MF, MG, MH, MQ (que contienen dos iones metálicos que actúan co-catalíticamente). El ion divalente contenido en el sitio activo es en la mayoría de los casos un ion zinc, pero también se encuentran el cobalto, manganeso o níquel<sup>37</sup>. “En humanos la mayoría de las metaloproteinasas zinc dependientes están distribuidas en el clan MA (por ejemplo las familias M3, M10, M12, M13, M41, M43 y M48), el clan ME (la familia M16), el clan MJ (familias M19 y M38), el clan MK (la familia M22), clan MM (familia M50). Adicionalmente hay 3 familias llamadas M49, M76 y M79, las cuales no han sido asignadas a ningún clan específico<sup>37</sup>. A la fecha de la redacción de este documento (enero 2013) en la base de datos MEROPS hay 16 clanes, se han incluido MS y MT y las familias M73, M77, M79, M82, M88, no han sido asignadas a ningún clan específico<sup>39</sup>.

### **2.3.2. Estructura de las MMP**

La estructura de la MMP, la cual se mantiene dentro del retículo endoplásmico y es transportada fuera de la célula por secreción enzimática (zimógenos), consiste en un péptido señal en la región N-terminal; un dominio propéptido, que se remueve durante la activación; el dominio catalítico conservado contiene al ion Zinc (figura 6). El dominio catalítico en las gelatinasas (CBD: collagen binding domain<sup>37</sup>) es el único de las MMP que contiene un dominio con tres secuencias tipo fibronectinall, las cuales mantienen el contacto y el subsecuente corte al colágeno tipo IV o el colágeno desnaturalizado (gelatina)<sup>38</sup>. La comparación de las secuencias revela similitudes consistentes en: i) el propéptido que está envuelto en el proceso de secreción de la pro-enzima, ii) el prodominio autoinhibitorio, iii) el dominio catalítico y iv) el dominio C-terminal tipo hemopexina, que está envuelto en el reconocimiento/oposición de sustratos<sup>37</sup> (figura 7).

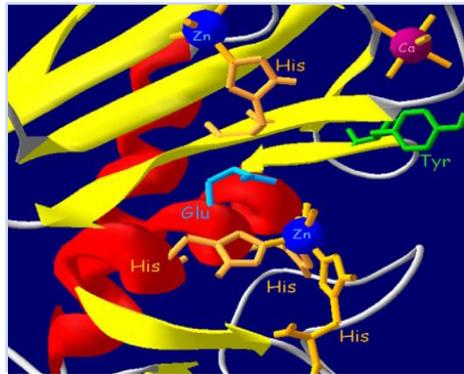


Figura 6. Sitio catalítico de la MMP. D. Sbardella et al. 2012<sup>37</sup>

Representación del sitio catalítico de una MMP (en particular de la MMP-8). En amarillo las 3 histidinas (His197, His201, His207), en coordinación con el átomo de  $Zn^{2+}$  catalítico (esfera azul) y en azul los residuos de glutamato (Glu198 in MMP-8) implicados en el mecanismo de lanzadera. La esfera magenta es un átomo de  $Ca^{2+}$  estructural, en verde un residuo de tirosina y en naranja un residuo de histidina (His162 in MMP-8), el cual se coordina con un átomo de  $Zn^{2+}$  estructural (esfera azul).

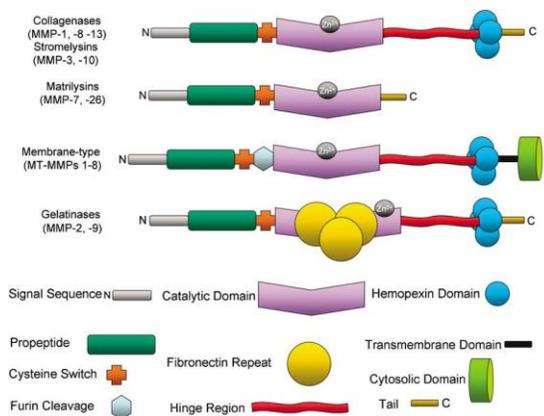


Figura 7. Estructura de las MMP. AK Chow et al. 2007<sup>38</sup>.

La estructura de las MMP es típicamente clasificada de acuerdo a los sustratos que degrada y poseen varias características estructurales en común. El dominio N-terminal contiene una secuencia señal, la cual mantiene mientras la enzima sale de la célula. Todas las MMP se producen como zimógenos, con un dominio propéptido, que contiene un interruptor de cisteína. El dominio catalítico de todas las MMP contiene un ión de  $Zn^{2+}$ . El dominio catalítico de las gelatinasas es el único que contiene 3 fibronectinas repetidas. Fuera de las matrilisinas, las MMP contienen una región flexible de bisagra la cual tiene un dominio de hemopexina, ligado a la cola C-terminal.

### 2.3.3. La actividad y regulación de las MMP

Las MMP actúan de varias maneras en la MEC, proteólisis a través de señalización, degradan uniones intercelulares, degradan membrana basal,

activan señales latentes y regulan señales activas<sup>39</sup>. La mayoría de las MMP se secretan como precursores y se activan en la MEC<sup>40</sup> (figura 8). La actividad de las MMP puede estar regulada en varios niveles: transcripción y traducción genética, modificaciones postraduccionales, interacciones con inhibidores endógenos como los TIMP<sup>40</sup>. Se han caracterizado cuatro TIMP, llamados TIMP1, TIMP2, TIMP3 y TIMP4, que mantienen el balance con las y MMP<sup>40</sup>. TIMP 1,2,4, son secretados en forma soluble, mientras TIMP3 es el único que está asociado a compuestos de la MEC<sup>40</sup>.

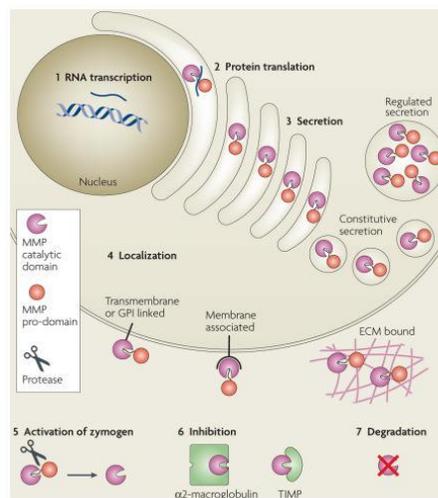


Figura 8. Regulación de las MMP. Andrea Page-McCaw. 2007<sup>40</sup>.

La presencia o ausencia de MMP puede ser regulado a varios niveles : 1) transcripción de RNA, 2) síntesis proteica, 3) secreción y transporte intracelular, 4) localización intra o extracelular, 5) activación de zimógenos, 6) expresión de los inhibidores (TIMPs y  $\alpha$ 2-macroglobulin), y 7) degradación por proteasas.

La activación de proMMP requiere la disociación del puente entre cisteinil – sulfidrido en el dominio catalítico del ión Zinc. El residuo de cisteína es crítico y común a las MMP, también conocido como interruptor de cisteína, que es el mecanismo conocido para la activación de las MMP. El dominio hemopexina C-terminal está conectado al dominio catalítico por una región flexible de “bisagra”, y puede mantenerse conectado con otras proteínas, las cuales le sirven para alterar la actividad de las MMP<sup>38</sup> (figura 9).

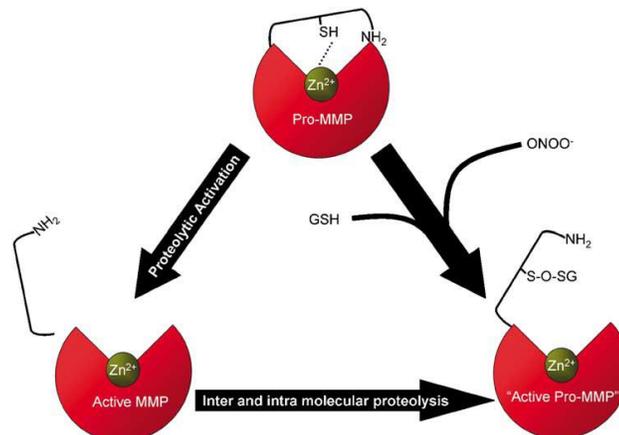


Figura 9. Mecanismo de activación de MMP. AK Chow et al. 2007<sup>38</sup>.

La activación de MMP2 puede hacerse a través de dos vías. La activación proteolítica por la MT1- MMP/TIMP ó por otras proteasas, ocurre por remoción del dominio propéptido inhibidor, resultando en una enzima activa. La presencia de estrés oxidativo (ONOO-) y glutatión celular (GSH) causa la S-glucación del residuo de cisteína crítica en el dominio propéptido, causando ruptura del enlace de coordinación de cisteína con el ion Zn<sup>2+</sup> del dominio catalítico, resultando en una activación total de la enzima.

#### 2.3.4. Sustratos macromoleculares de las MMP

El colágeno es el primer sustrato identificado de las colagenasas, luego el corte de otros como laminina, fibronectina, proteoglicanos, fue ensanchando la familia de las MMP, las enzimas que controlan el recambio de la MEC<sup>38</sup>.

Se han identificado unos 30 sustratos de las MMP in vitro, colágeno y agregán en vivo. Luego se ha hablado de nuevos sustratos que incluyen moléculas bioactivas como las quimiocinas, citocinas y receptores<sup>42</sup> (figura 10). Es por eso que se plantea el rol biológico de las MMP en el control de la homeostasis del medio extracelular en muchos niveles que incluyen la regulación de la función celular, crecimiento y división, regulación de las defensas innatas y adquiridas, y control de las señales que orquesta (dirige) la síntesis de la MEC. Overall y Rodríguez, consideran que los roles sobrepasan la importancia que se les dio inicialmente como meros efectores del recambio de la MEC<sup>42,43</sup> (figura 11).

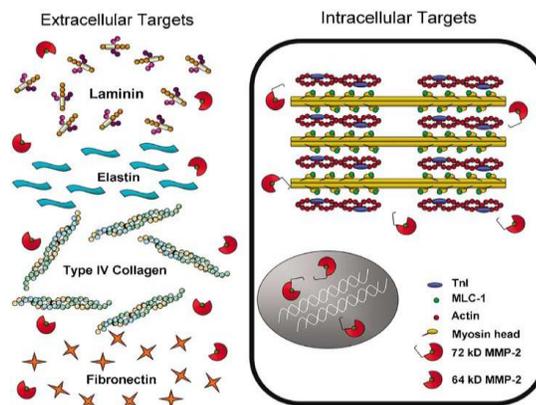
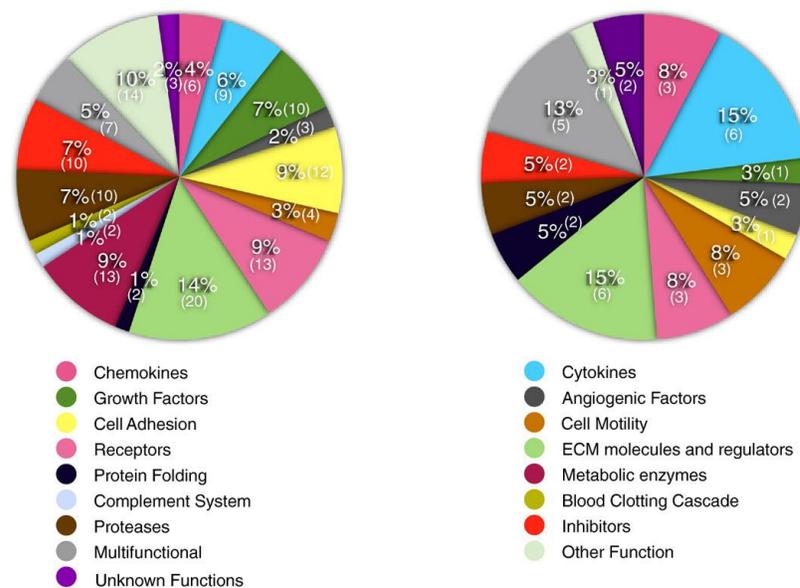


Figura 10. Sustratos de MMP2. AK Chow et al. 2007<sup>38</sup>.

Dianas de la MMP2 en un modelo de corazón I/R (isquemia/reperfusión). Puede incluir proteínas de la MEC tales como laminina, elastina, colágeno tipo IV y fibronectinas. Puede cortar y romper las moléculas de adhesión célula-célula. Esto puede ocurrir después de isquemia severa que resulta en el infarto, en una escala de días y semanas. En el cardiomiocito (a la derecha) la activación de la MMP2 puede ser el resultado del estrés oxidativo y puede rápidamente cortar proteínas sarcoméricas tales como TnI y MLC-1 para causar disfunción en la contractilidad en una escala de segundos a minutos.



## **2.4. METALOPROTEINASAS DE LA MEC, RIESGO CARDIOVASCULAR E HIPERTENSIÓN ARTERIAL**

La remodelación vascular que define cambios estructurales en la pared de los vasos en respuesta a un estímulo hemodinámico, tiene un rol en muchos procesos fisiopatológicos, requiere migración celular y degradación de la MEC, donde las MMP pueden degradar sus componentes y cumplir un importante rol vascular mientras la nueva MEC es sintetizada. Las MMP también participan en procesos patológicos como el desarrollo de nuevas placas ateroscleróticas postangioplastia, al permitir que las células musculares lisas migren desde la media vascular a la íntima y pueden contribuir a la ruptura de esas placas por la degradación de la capa fibrosa que las rodea<sup>44</sup>.

### **2.4.1. Las MMP en la remodelación vascular**

Las MMP se han propuesto como importantes contribuyentes en la patogénesis cardiovascular por la remodelación de los tejidos cardiovasculares en fibrosis miocárdica, engrosamiento de los vasos y ruptura de la placa aterosclerótica<sup>45</sup>.

“La remodelación arterial es reconocida como un importante determinante vascular, que contribuye al estrechamiento vascular, no sólo por remodelación expansiva, sino constrictiva y se observa en la restenosis después de una injuria, en la cual la hiperplasia neoíntima después de la injuria arterial tiene diferente espesor y la adventicia también y pueden volverse fibróticas. El factor tardío causa constricción de los vasos o remodelado negativo y es la principal causa de restenosis cuando el stent no está presente para resistir la constricción”<sup>44</sup>.

“Las células musculares lisas (SMC) están rodeadas por una MEC que contiene, colágeno, elastina y proteoglicanos. La migración de SMC de la íntima y la remodelación de los tejidos durante el engrosamiento de la íntima, requiere de una activación controlada de la MEC y de la activación de factores de crecimiento. El proceso se divide en tres pasos: cambios fenotípicos del estado de contractilidad, disolución proteolítica de las proteínas de la MEC y migración a través de matrices digeridas”<sup>44</sup>.

En este proceso varias MMP se encuentran implicadas: la MMP3 aumenta después de la injuria de la pared arterial, las gelatinasas MMP2 y MMP9 están involucradas en la migración de SMC y en la hiperplasia de la íntima en ratones y, en humanos y animales se ha demostrado aumento de las MMP1,2,3,7,9,12 y 13 en las lesiones ateroscleróticas. Sin embargo, las MMP se han asociado no sólo a la progresión, sino a la ruptura de la placa aterosclerótica: el aumento de la actividad de la MMP2 resulta en la degradación del colágeno y reduce el tamaño de la placa y el aumento de TIMP1 reduce el tamaño de la placa en ratones ApoE deficientes<sup>41</sup>. En otro estudio las lesiones fueron mayores cuando había deficiencia combinada de ApoE y MMP3, las placas contienen menos macrófagos y más colágeno fibrilar y esta observación sugiere que MMP3 es de las que más contribuye a la degradación de la MEC y a la reducción del tamaño de la placa<sup>44,45</sup>.

De otro lado, algunos medicamentos como la doxiciclina y otros derivados de las tetraciclinas que inhiben la síntesis bacteriana, han demostrado ser potentes inhibidores de MMP2 y MMP9 en la pared arterial. Batimastat y marimastat (inhibidores no selectivos de MMP), mostraron un efecto en la remodelación constrictiva, pero no de la formación de neoíntima<sup>44</sup>.

“En el corazón, las MMP se han encontrado principalmente como zimógenos y/o asociados con sus inhibidores endógenos (TIMP). La MMP2 se expresa de manera ubicua en las células, que incluyen los cardiomiocitos, el endotelio

vascular, las células musculares lisas, los fibroblastos y las arterias humanas y venas humanas normales en las células endoteliales. La MMP9 es una enzima cuya expresión es inducida por condiciones de activación inmunitaria (tales como la respuesta inflamatoria y las citocinas), en leucocitos y macrófagos, células endoteliales humanas y en cardiomiocitos en embriones”<sup>37</sup>.

#### **2.4.2. Las MMP en la HTA.**

“La señalización de circuitos usa la proteólisis como una llave que controla puntos para activar prohormonas o precursores de citocinas y para inactivar esas moléculas bioactivas como un preciso sistema de regulación en ambientes intersticiales y extracelulares”<sup>42</sup>.

En el control de la presión sanguínea, el angiotensinógeno, por acción de la renina, se convierte en angiotensina I, la cual a su vez se convierte en angiotensina II por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)<sup>46</sup>. En este proceso se activa la endotelina-1 (E-1), un potente péptido vasoactivo hipertensor, la cual es también un potente vasoconstrictor y la E-1 es inactivada por hidrólisis catalizada por la MMP2; así la presión sanguínea es dinámicamente controlada<sup>42</sup>.

Parece que el péptido vasodilatador adrenomedulina (AM) es un sustrato biológicamente relevante para la MMP2 en vivo, pues se ha evidenciado que la MMP2, pero no la MMP9, controla la presión sanguínea a través de la AM; la MMP2 corta en fragmentos a la AM, cambiando su función, pudiendo generar vasodilatación y vasoconstricción <sup>42</sup> (figura 12).

La AM se expresa por estímulos mecánicos y por citocinas inflamatorias y en el endotelio vascular y las células musculares lisas y ejerce una potente acción autocrina y paracrina con efectos vasodilatadores y diuréticos. Los efectos pleiotrópicos también protegen el miocardio por la inhibición de la

producción de MEC y previene remodelación cardíaca y fibrosis. Además la AM es mediador en la vasodilatación localizada componente de la inflamación o edema tisular. Adicionalmente, el factor H del complemento, hallado en el suero, previene específicamente el corte de AM<sup>38</sup>.

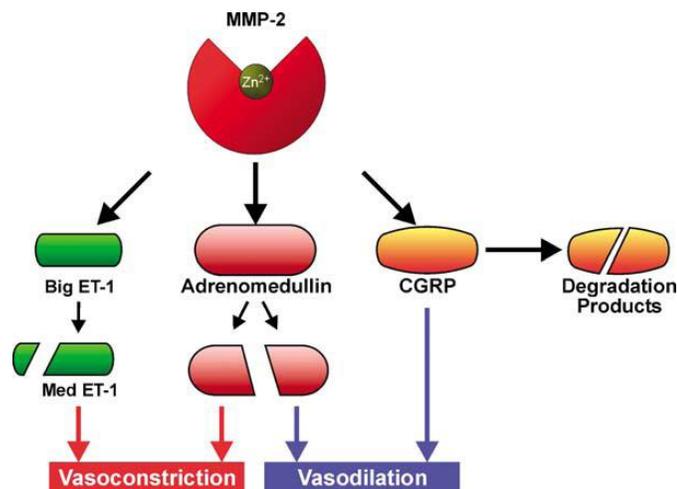


Figura 12. Regulación del tono vascular por MMP2. Chow AK. 2007<sup>38</sup>.

La MMP2 puede regular el tono vascular vía proteólisis de péptidos vasoactivos. A la izquierda la MMP2 corta la Gran ET-1 y genera un potente vasoconstrictor, la Med ET-1. En el centro: la MMP2 puede hacer proteólisis del péptido adrenomedulina resultando en la generación de ambos efectos: vasoconstrictor y vasodilatador. A la derecha: MMP2 también puede cortar CGRP, para la degradación de productos no vasoactivos. CGRP, péptido relacionado con el gen de la calcitonina; ET-1, gran endotelina -1; MED et-1, endotelina -1 mediana; MMP, metaloproteinasas de la matriz.

La relación de las MMP con hipertensión en humanos se ha demostrado en varios estudios, por ejemplo, se ha identificado el aumento de las MMP2 y MMP9 en respuesta al tratamiento antihipertensivo<sup>6</sup>. La activación de la MMP9 se ha asociado con un rol benéfico en la HTA, que preserva la adaptabilidad vascular y alivia los efectos de la presión sanguínea<sup>47</sup>.

## 2.5. LA RELACIÓN ENTRE LAS MMP Y LAS HDL

Cada vez se identifican nuevos roles para las MMP, adicionales a la remodelación de la matriz extracelular, tales como: reguladores del comportamiento celular, vías de señalización, desarrollo de procesos, homeostasis celular y enfermedad<sup>43</sup>, para lo cual actúan sobre una variedad de sustratos como citocinas, factores de crecimiento, adhesión celular, plegamiento proteico, sistema del complemento, factores angiogénicos, factores de inflamación, motilidad celular, enzimas metabólicas, cascada de la coagulación, inhibidores y otros<sup>48</sup>.

La relación de las MMP, las HDL y la enfermedad cardiovascular se ha descrito en varios estudios, Lindstedt y colaboradores<sup>10</sup>, mostraron que las MMP3, MMP7 y MMP12 reducen el eflujo de colesterol desde los macrófagos hacia las HDL3, permitiendo que éste se acumule en los macrófagos y en las lesiones ateroscleróticas, y concluyen que las MMP3, MMP7, MMP12 pueden degradar la ApoA-I de las HDL3, bloqueando el transporte reverso del colesterol de las células espumosas. Esas MMP reducen fuertemente el transporte reverso de colesterol, cortando la terminación COOH de la ApoA-I y produciendo un fragmento mayor de 22 kD. La preincubación de HDL3 con MMP1 redujo ligeramente el transporte reverso de colesterol, cortando el extremo C-terminal de la ApoA-I. La incubación de HDL con MMP9, no afectó el transporte reverso del colesterol<sup>10</sup>. Lo anterior significa que algunos miembros de las familias de las MMP pueden remodelar las subpoblaciones de las HDL, específicamente HDL3, a través de la modificación proteolítica de la ApoA-I, la principal apoproteína de esta subpoblación, impidiéndole cumplir con su función de receptora de colesterol proveniente de las células<sup>49</sup>. Estos estudios apoyan otros que muestran que las subfracciones de las HDL tienen diferentes relaciones con el riesgo de enfermedad cardiovascular y que estas pueden ser remodeladas por las MMP<sup>11-12,50</sup>.

La proteólisis por MMP puede asociarse con la placa aterosclerótica desde su aparición en adelante. Esto puede ser parte del mecanismo por el cual las HDL actúan como un factor antiaterogénico. Sin embargo, la acción proteolítica de las MMP eventualmente inactiva las HDL, particularmente las HDL3 que son las más eficientes en la remoción del colesterol<sup>49</sup>. Después de formada la lesión ateromatosa, la ApoA-I puede competir con los componentes de la matriz como un sustrato para las MMP y reducir la habilidad de las enzimas de la pared arterial para efectuar una remodelación y eventual ruptura<sup>49</sup>. La ApoA-I contiene múltiples hélices anfipáticas como un motivo estructural que promueve la asociación con lípidos. La ABCA1 interactúa con las formas libres o pobres en lípidos de ApoA-I para remover el colesterol de las células espumosas<sup>51</sup>.

## **2.6. GELATINASAS A Y B. MMP2: GELATINASA A Y MMP9: GELATINASA B.**

Son las metaloproteinasas de la matriz extracelular, agrupadas en la familia M10, del clan MA, en particular las MMP2 y MMP9, conocidas como gelatinasas por su capacidad de procesar el colágeno desnaturalizado. La gelatinasa A ó MMP2 es una enzima de 72 y 62 kD para la proenzima y la enzima respectivamente, y la gelatinasa B ó MMP9 con 92-85-82 kD para la proenzima, la forma intermedia y la forma activa de la enzima, respectivamente<sup>37</sup>.

Las gelatinasas están ampliamente envueltas en procesos inflamatorios y en cáncer y han sido considerados una importante diana antitumoral, sin embargo esta potencialidad ha sido cuestionada, reduciendo su atractivo como dianas farmacológicas. Se han identificado nuevos sustratos y se ha reconocido su importancia en varias enfermedades no neoplásicas<sup>37</sup>.

“El rol de las MMP2 y MMP9 se ha soportado in vivo e in vitro con distintos y a veces opuestos patrones, consistente con la noción que la MMP9 tiene propiedades inflamatorias, mientras que la MMP2 tiene facultades pro-homeostáticas”<sup>37</sup>.

### **2.6.1. MMP2 o Gelatinasa A**

#### **Aspectos estructurales:**

“En el marco general de la estructura de las gelatinasas, la MMP2 presenta algunas especificidades identificadas por análisis de cristalografía de proMMP2 y proMMP2 en complejo con TIMP2 (figura 13). El dominio propéptido despliega una triple hélice y la cisteína del dominio interruptor tiene cuatro ligandos al ión  $Zn^{2+}$  en la enzima inactiva. El dominio CBD es el principal dominio envuelto en el reconocimiento de sustratos y está compuesto por tres dominios de fibronectina en módulos, con similar conformación, que se pliegan separadamente. El CDB tiene un área de

contacto con el dominio catalítico, envolviendo principalmente el segundo dominio FnII. A diferencia de otras MMP, el dominio de hemopexina tiene una contribución mínima para el reconocimiento de sustratos, mientras que es esencial para la parcial liberación de sustratos facilitando el acceso posterior al sitio de corte en el caso del colágeno IV<sup>37</sup>.

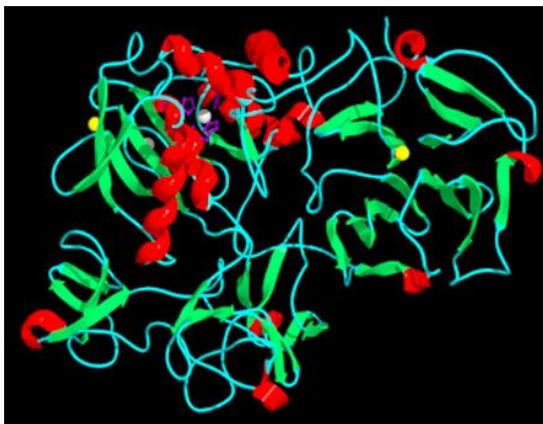


Figura 13. Estructura de la MMP2. Merops database 2012<sup>39</sup>. El ión zinc estructural y catalítico se muestra en esferas grises. El ión de calcio estructural se observa en esferas amarillas. Los ligando al zinc se observan en bolas y barras: His403 e His413 en púrpura.

### **Aspectos biológicos :**

“La MMP2 se expresa en la mayoría de los tejidos humanos y principalmente en los fibroblastos, las células endoteliales y epiteliales. La enzima es detectable en concentraciones significativas en suero en condiciones fisiológicas. Elevados niveles de la enzima están determinados por el estímulo de citocinas, macrófagos y principalmente por los fibroblastos sinoviales, la principal fuente de esta enzima<sup>37</sup>. La expresión de MMP2 se aumenta por la migración de macrófagos, citocinas y factores como la IL-1 $\alpha$  y la ciclofilina A, los cuales estimulan la expresión de la glicoproteína inductora de MMP (EMMPRIN ó CD-147) en la superficie de los macrófagos, que a su vez, induce la expresión de MMP. No menos notable es la habilidad de la MMP2 una vez secretada para degradar e inactivar citocinas y quimiocinas que puede contarse como un rol protector en las bases moleculares de la artritis reumatoide (AR)<sup>37</sup>.

Su actividad está regulada por los TIMP, en particular TIMP2, TIMP3 y TIMP4<sup>37</sup>. Su adecuada secreción requiere de un balance en la relación MMP-2/TIMP. La MMP2 puede ser modulada por fosforilación en varios sitios y la protein cinasa C, puede ser un regulador in vivo<sup>52</sup>, lo cual abre importantes perspectivas para la interacción con sustratos. Además del colágeno tipo IV puede cortar una gran cantidad de sustratos que incluyen citocinas, factores de crecimiento, receptores o ligandos, por lo cual su actividad biológica se relaciona con muchos procesos fisiológicos y patológicos como enfermedades neoplásicas, enfermedades cardiovasculares y enfermedades autoinmunes<sup>37</sup>. El TIMP2 inhibe la MMP2 y es el único TIMP que muestra consistente inhibición de la angiogénesis, en diversos sistemas usados. Presenta dos actividades anti angiogénicas, uno en el N-terminal, y otra en C-terminal<sup>53</sup>.

### **Acciones específicas**

Enfermedades del sistema cardiovascular.

“La aterosclerosis es un endurecimiento patológico de la pared arterial por depósito de ácidos grasos y colesterol, en la cual se altera la permeabilidad de la capa endotelial para las LDL y los ácidos grasos, los cuales se depositan en el espacio subendotelial. Las modificaciones químicas de esas macromoléculas como oxidación y/o inflamación con reclutamiento del sistema monocito/macrófago invaden la lesión aterosclerótica, generando las células espumosas, un peculiar marcador de la enfermedad, constituidas por macrófagos llenos de LDL oxidadas, lo cual aumenta la oxidación de las LDL; en una etapa avanzada una capa fibrosa cubre las células musculares y los componentes de la MEC rodean la lesión: su ruptura generalmente dispara trombos que a mediano plazo pueden generar un evento agudo<sup>37</sup>.

La gelatinasa A es una enzima que se expresa constitutivamente, sin embargo en un contexto inflamatorio como la aterosclerosis, la enzima es particularmente abundante. En modelos experimentales en ratones su rol se

da en ayudar en la progresión de la aterosclerosis<sup>37</sup>, mientras investigaciones epidemiológicas en pacientes revelan que el gen de MMP2, en particular la región promotora se asocia con el espesor de la capa fibrosa y por lo tanto puede influenciar el rol de la MMP2 en la vulnerabilidad de la placa<sup>54</sup>. La MMP2 se ha relacionado fuertemente con la ruptura de la placa, pero ambos, la degradación de los componentes de la capa fibrosa y la modulación de la biodisponibilidad de las citocinas, contribuyen a la inestabilidad de la placa, como es el caso del TNF- $\alpha$ . Adicionalmente la MMP2 juega un rol de pivote en la migración de las células musculares lisas, un evento que ocurre en una etapa avanzada de la enfermedad y tiene un fuerte impacto en la formación de la capa fibrosa”<sup>37</sup>.

Varios factores que promueven la progresión de la aterosclerosis, como la trombospondina y angiotensina, modulan positivamente la expresión de la MMP2 por las células musculares<sup>37</sup>. Los radicales libres (ROS) y las oxLDL inducen secreción de MMP2; es notable que las OxLDL puedan modificar el metabolismo y los patrones proteómicos de las células que rodean la lesión aterosclerótica y pueden contribuir a la modificación epigenética del gen MMP2, el cual puede aumentar la regulación de la enzima<sup>37</sup>.

#### Tromboembolismo y accidente cerebro vascular (ACV)

“En el sistema nervioso central la MMP2 se expresa normalmente por neuronas, microglía y astrocitos que presumiblemente guían la remodelación fisiológica de la barrera hematoencefálica. La MMP2 se aumenta una hora después del ACV y la hipertermia local y estímulos proinflamatorios promueven el contenido de MMP2. Esta condición aumenta la degradación de la membrana basal, en particular el colágeno IV y la laminina. Sin embargo, la MMP2 puede contribuir a la activación de las células de la glía, facilitando la modulación inmune de sustancias proinflamatorias. La

correlación de MMP2 con ACV también se ha reforzado por evidencias genéticas<sup>37</sup>.

#### Infarto del miocardio (IM)

“El resultado de un IM depende muy estrechamente de una adecuada remodelación de la arquitectura ventricular. Este proceso es guiado por el depósito de macromoléculas en la MEC y es una forma de prevenir la rigidez y otras condiciones patológicas que afectan la viscoelasticidad del miocardio y terminan en una falla cardíaca. El rol de la MMP2 en los tejidos cardíacos incluye pasos críticos en el corazón y el sistema cardiovascular desarrollado durante la embriogénesis, como una de las enzimas representadas en condiciones patológicas que requieren remodelación de la MEC y restauración de la homeostasis de los cardiomiocitos<sup>37</sup>. “La MMP2 es una clave para recobrase después del IM: aparece definiendo un patrón en los primeros tres días. Es principalmente secretada por las células endoteliales en respuesta a las citocinas y proteínas inductoras de MMP (EMMPRIN), las cuales son típicamente estímulos inflamatorios del miocardio infartado. La IL-1 $\beta$  podría ser el principal inductor del área postinfarto, pero también el TNF $\alpha$  tiene gran relevancia<sup>37</sup>.”

La actividad de MMP2 participa en dos procesos diferentes, es necesaria para prevenir la fibrosis, promoviendo moléculas de la MEC y reforzando a las células mesenquimales a secretar MMP2<sup>37</sup>.

“Otros hallazgos experimentales refuerzan la hipótesis que elevadas concentraciones de MMP2 son una consecuencia del esfuerzo de hacer una regulación para disminuir los estímulos inflamatorios. Sin embargo, en el desarrollo del IM el aumento de la MMP2 estimulado por las vías TLR (Toll like receptor) en el tejido sinovial modula la migración endotelial y formación de nuevos vasos<sup>37</sup>.”

## 2.6.2. MMP9 o Gelatinasa B

### Aspectos estructurales :

“La composición de la MMP9 tiene gran semejanza con la MMP2, se diferencian principalmente en la composición y orientación de los aminoácidos en el sitio activo. El dominio catalítico de la MMP2 y MMP9 tienen la misma organización estructural, sin embargo, el sitio S1 es particularmente profundo en la MMP9<sup>37</sup> (figura 14). El dominio de colágeno (CBD) está ubicado al final del dominio catalítico. El CBD de la MMP9 tiene diferente orientación con respecto al sitio catalítico y no ocurre interacción entre esos dominios. La MMP9 posee un dominio bisagra colágeno tipo V extensamente O-glicosilado (OG-dominio), es un dominio bisagra inusualmente más grande (54 residuos), que se inserta entre el dominio catalítico y el dominio de hemopexina aportando una estrecha interacción, lo cual confiere una extraordinaria flexibilidad a la enzima<sup>37</sup>. Esta característica sugiere un “modelo de gusano” del movimiento de MMP9 a lo largo de las fibras de colágeno, las cuales suministran una explicación para esos aspectos de la interacción con los sustratos de la MEC<sup>37,55</sup>.”

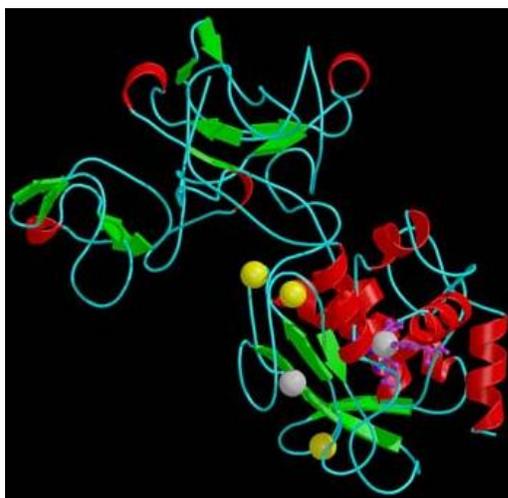


Figura 14. Estructura de MMP9. Merops2012<sup>39</sup>.

El ión zinc estructural y catalítico se observa en esferas grises. El ión de calcio estructural se observa en esferas amarillas. Los ligandos al zinc se observan en bolas y barras. His401, His405 e His411 en púrpura.

**Aspectos biológicos :**

“Las principales dianas de la MMP9 son los componentes de la membrana basal, pero citocinas y factores de crecimiento también lo son. La MMP9 se expresa fisiológicamente principalmente en células inmunes, sin embargo, su distribución espacial y cronológica hace unas dianas prototipos en eventos inflamatorios; el corte proteolítico de los sustratos puede ocurrir en condiciones anti-homeostáticas. La MMP9 es inducida por moléculas de adhesión activada por integrinas, citocinas y factores de crecimiento”<sup>37</sup>. Su actividad está regulada por TIMP1 y TIMP3. TIMP1, es un inhibidor conocido por un enlace con la proMMP9 y presenta un significativo aumento asociado a MMP9<sup>53</sup>. Las LDL oxidadas, pero no las LDL inducen aumento en la producción de MMP9 y disminución de su inhibidor TIMP1<sup>56</sup>.

**Acciones específicas :****Ateroesclerosis**

“La MMP9 se encuentra aumentada en el suero de pacientes con lesiones avanzadas, de tal manera que su cuantificación se ha considerado un marcador para el diagnóstico y tratamiento. Estímulos como el TGF, TGF- $\beta$ , la IL-1 y otras citocinas solubles así como sus componentes oxidados disparan la expresión de la MMP9”<sup>37</sup>. Es de destacar que los neutrófilos no son reclutados en las lesiones y la principal fuente de MMP9 son posiblemente los macrófagos. La MMP9 juega un rol facilitando la migración de células musculares lisas en la lesión, lo cual contribuye a la expansión de la capa fibrosa de la placa. La MMP9 media la degradación de la elastina y otros componentes de la capa fibrosa para facilitar su ruptura. La asociación entre los altos niveles de MMP9 y el aumento del riesgo de un evento agudo como isquemia o embolia ha sido probada a través de un rol profibrótico en la formación de la placa<sup>37,57</sup>. “Sin embargo, la evidencia de la MMP9 como diana farmacológica se correlaciona con la estabilidad de la placa y la

reducción de eventos coronarios da luces sobre el rol de la enzima en la patogénesis de la aterosclerosis”<sup>37</sup>.

#### Tromboembolismo y ACV

“Como consecuencia de la ruptura de la placa se generan trombos de los cuales dependen el deterioro del corazón y/o el cerebro. La concentración sérica de la MMP9 se eleva en pacientes con eventos isquémicos agudos, generalmente se relaciona con un pobre pronóstico y se asocia con formación de edema. En eventos agudos las células de la microglía son estimuladas por la MMP9 para secretar factores proinflamatorios, lo cual contribuye a la ruptura de la barrera hematoencefálica. La ocludina, principal componente de las uniones de los astrocitos, es marcada por la actividad patogénica de la MMP9 y este evento usualmente termina en alteraciones de la permeabilidad vascular de la barrera hematoencefálica. Llama la atención que en modelos experimentales en ratones la terapia génica para inhibir MMP9 mejora los resultados cuando se administra después de eventos agudos”<sup>37</sup>.

#### Infarto del miocardio

“La identificación de altos niveles de MMP9 en suero de pacientes con IM ha abierto la perspectiva de que está envuelta no solamente en la inestabilidad de la placa aterosclerótica, sino que la desregulación de la enzima evidenciada en el desbalance de MMP9/TIMP1, se asocia usualmente con un pobre pronóstico. Dos eventos distintos cronológicamente elevan la MMP9 en el tejido infartado: el primero corresponde al reclutamiento de neutrófilos y el segundo (que ocurre varios días después) es la asociación de multitud de linfocitos y macrófagos al microambiente inflamado. Un resultado benigno de IM depende estrictamente de una adecuada remodelación de la arquitectura ventricular. Sin embargo una correcta regeneración miocárdica

es bloqueada por los depósitos de tenascina C, los cuales están directamente relacionados con la degradación de la fibronectina, secretada por fibroblastos y miofibroblastos. La degradación de la fibronectina por MMP9 permite que se aumenten los fragmentos capaces de inhibir la acumulación de tenascina C. Sin embargo, elevadas concentraciones de MMP9 favorecen un desbalance en la distribución de esos componentes de la MEC, que comprometen la arquitectura ventricular. Llama la atención que el trasplante de células madre mesenquimales, disminuye la expresión de MMP9 en los fibroblastos y está acompañada de una mejoría del resultado, disminuyendo o atenuando la inflamación<sup>37</sup>.

“En conclusión, ahora se reconoce que la concentración de MMP9 en IM, tiene un delicado equilibrio y su inhibición previene la rigidez ventricular y la remodelación de la MEC y se ve como necesaria para la angiogenesis<sup>37</sup>”.

### **2.6.3. Expresión, activación y relaciones de las MMP2 y MMP9**

Los principales productores de MMP2 son los fibroblastos, sin embargo, cultivos de células musculares lisas (SMC) producen MMP2 y TIMP<sup>42</sup>. La expresión de MMP está regulada por moléculas proinflamatorias y lípidos oxidados<sup>58</sup>.

El aumento de la actividad de la MMP2 resulta en la degradación del colágeno y reduce el tamaño de la placa aterosclerótica. La MMP2 y MMP9 están involucradas en la migración de SMC y en la hiperplasia de la íntima en ratones<sup>42</sup>.

La MMP2 corta la adrenomedulina, un potente vasodilatador y genera una serie de péptidos y citocinas inflamatorias, como la IL-1 y TNF $\alpha$ , que resultan en la vasodilatación característica y esencial de la inflamación<sup>42</sup>.

La MMP2 corta a la endotelina-1, una hormona pleiotrópica con potente efecto vasoconstrictor. La ET-1 es producida primariamente por el endotelio. Su síntesis está estimulada por agentes vasoactivos (angiotensina y norepinefrina), citocinas (TNF $\alpha$ ) y estrés mecánico<sup>42</sup>.

Las HDL son capaces de modular la oxLDL inducidas por activación del EGFR con el subsecuente aumento de MMP2 en células musculares lisas. Las oxLDL aumentan MT1-MMP y MMP2, a través de un mecanismo dependiente de EGFR, que inhiben las HDL. El efecto protector de las HDL contra las oxLDL, induce activación de EGFR principalmente mediada a través de la interacción entre ApoA-I con SRBI<sup>58</sup>. Las investigaciones muestran que el aumento de la proMMP2 y la activación por MT1-MMP fue fuertemente inhibido por HDL y por contraste, la expresión de MMP9 fue sólo parcialmente inhibida por HDL. Las HDL bloquean de manera dosis dependiente la activación del EGFR mediada por las oxLDL a través de un mecanismo relacionado con ROS<sup>58</sup> (figura 15).

Altas concentraciones de HDL pueden saturar el receptor CD36, limitando la captación de oxLDL y la producción de MMP1. La habilidad de las HDL para inhibir la actividad de la MMP1 por las oxLDL, puede ser, en parte por el receptor scavenger CD36, que está envuelto en la captación de las oxLDL en su internalización y degradación. También las HDL han mostrado alta afinidad por el receptor CD36<sup>56</sup>.

Las LDL oxidadas (ox-LDL), pero no las LDL, aumentan la expresión de la MMP9 y sus niveles de actividad, mientras reducen la expresión de TIMP1, en monocitos derivados de macrófagos. Las HDL anulan la inducción que hacen las ox-LDL de la MMP9<sup>57</sup>.



puede influenciar la remodelación de la MEC en la aterosclerosis<sup>11,12</sup>. Otro estudio ha demostrado que formas purificadas de apo A-I y apoE, son cortadas in vitro por la MT1-MMP<sup>13</sup>.

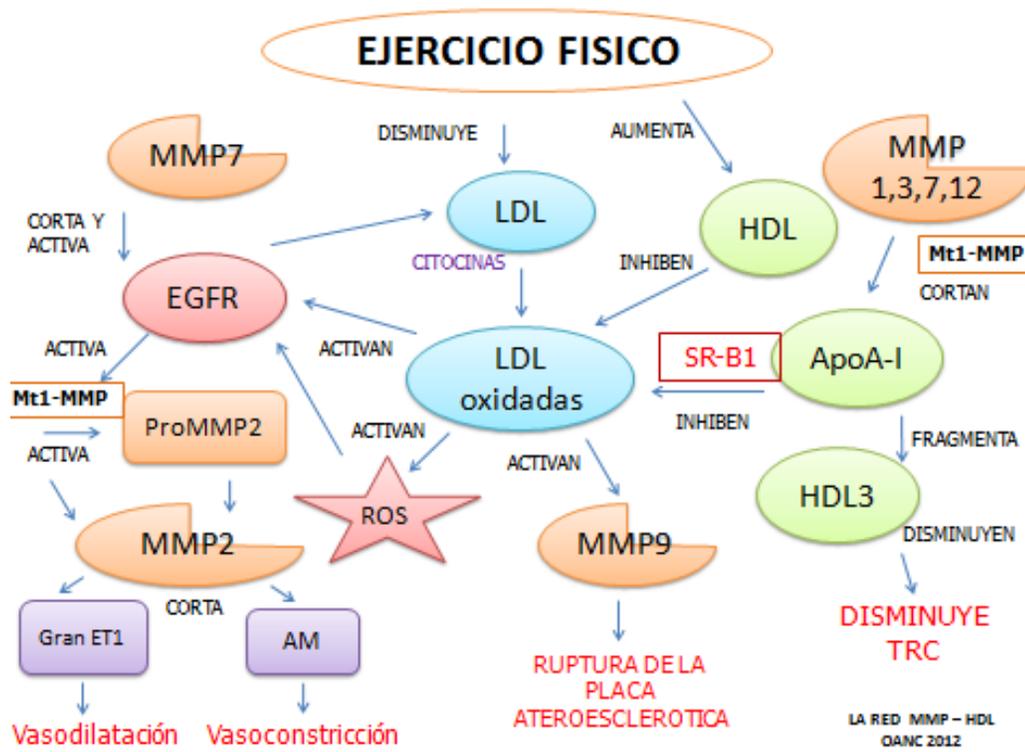


Figura 16. La red MMP – HDL. Nieto OA. 2012.

## 2.7. UN RESUMEN DE LA RELACIÓN MMP – HDL

Esta revisión aportó argumentos para graficar las relaciones entre las HDL y las MMP (figura 16), en la cual se puede observar que las MMP3,7,12, cortan la porción C-terminal de la ApoA-I y fragmentan las HDL3 con la consecuente disminución del transporte reverso del colesterol. Las HDL son capaces de modular la oxLDL inducidas por activación del EGFR. El efecto protector de las HDL contra las oxLDL, induce activación de EGFR principalmente mediada a través de la interacción entre ApoA-I con SRBI. La MMP7 corta el EFGR y lo activa, activando la MMP2 por la vía de la MT1–MMP; la MT1-MMP también se activa por citocinas proinflamatorias y tiene como sustrato la apoA-I. La MMP2, actúa principalmente en las SMC y el endotelio, tanto cortando la endotelina1 (ET-1), para un efecto vasorelajador y/o cortando la adrenomedulina (AM), para un efecto vasoconstrictor. La activación de EGFR por las oxLDL es mayor en presencia de citocinas inflamatorias. La MMP9 se aumenta y activa por las LDL oxidadas y su acción ocurre más al interior del ateroma, causando disrupción.

Dado que las MMP2 y MMP9 están involucradas en la remodelación de la MEC en la HTA, el presente trabajo se propuso investigar el efecto del ejercicio físico sobre la apoA-I, las subfracciones HDL2 y HDL3, las MMP2 y MMP9, y responder las siguientes preguntas en pacientes hipertensos:

- Modifica el ejercicio físico los niveles de las subfracciones HDL2 y HDL3?
- Modifica el ejercicio físico la concentración de las MMP2 y MMP9, en suero?
- La modificación de las subfracciones de HDL2 y HDL3 está relacionada con la modificación de las MMP2 y MMP9 debido al ejercicio?

### **3.OBJETIVOS**

#### **3.1. GENERAL**

Determinar el efecto del ejercicio físico sobre los niveles séricos de la MMP2, MMP9 y sobre las subfracciones de HDL2 y HDL3, en personas hipertensas de un programa de riesgo cardiovascular en el municipio de Armenia - Quindío.

#### **3.2. ESPECÍFICOS**

1. Establecer el efecto del ejercicio físico sobre los niveles séricos de la MMP2 y MMP9 en personas hipertensas de un programa de riesgo cardiovascular en el municipio de Armenia - Quindío.
2. Establecer el efecto del ejercicio físico sobre las subfracciones de HDL2, HDL3 y apoA-I, en personas hipertensas de un programa de riesgo cardiovascular en el municipio de Armenia - Quindío.
3. Establecer si existe una relación entre el ejercicio físico, los niveles séricos de las MMP2, MMP9, las subfracciones de HDL2, HDL3 y apoA-I, en personas hipertensas de un programa de riesgo cardiovascular en el municipio de Armenia - Quindío.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. DISEÑO Y CÁLCULO DE LA MUESTRA.

Se realizó un estudio cuasiexperimental tipo ensayo comunitario. La intervención fue el ejercicio físico, considerado la variable independiente y se tomaron muestras antes y después.

**Muestra:** Se realizó una muestra probabilística calculada para un error de muestreo del 5% y un nivel de confianza del 95%. El cálculo del tamaño de la muestra se hace por medio de la relación :

$$n \geq \frac{N z_{1-\alpha}^2 \sigma^2}{N \delta^2 + z_{1-\alpha}^2 \sigma^2}$$

Donde  $z_{1-\alpha}$  es el valor correspondiente a una confianza  $1-\alpha$ ,  $N$  es el tamaño de la población,  $\sigma^2$  la varianza y  $\delta$  el error de muestreo. Como la población en estudio es suficientemente grande, el valor de  $N$  se puede considerar infinito y haciendo las simplificaciones correspondientes se obtiene

$$n \geq \frac{z_{1-\alpha}^2}{\delta^2} \sigma^2$$

El valor de  $\sigma^2$  se obtiene con fundamento en la prevalencia de HTA en la población general (20%) según la guía del Ministerio de Salud<sup>1</sup>. Así que para un error de muestreo de 0,05 y una confianza el 95%, en las variables cualitativas, se requiere un tamaño de muestra de 247 pacientes hipertensos. Se hizo una corrección por no respuesta, que se supuso del 50%, por lo que inicialmente se llamaron 500 pacientes.

La selección de la muestra se hizo en forma aleatoria, utilizando el teorema de la transformación integral inversa<sup>59</sup>.

#### **4.2. POBLACIÓN Y SUJETOS DE ESTUDIO**

La constituyeron personas hipertensas de la ciudad de Armenia, seleccionadas en la base de datos de riesgo cardiovascular, de pacientes hipertensos controlados de la consulta externa de la Red Pública del primer nivel de atención (RedSalud), de manera aleatoria. El estudio se hizo en voluntarios mujeres y hombres mayores de 18 años en el programa de control de la presión arterial, que firmaron el consentimiento informado (anexo 1). Se excluyeron del estudio pacientes con artrosis, diabéticos y pacientes que estaban usando tetraciclinas y corticoides (medicamentos reconocidos por alterar las MMP). Los pacientes se dividieron en dos grupos, un grupo que realizó ejercicio y otro grupo que no realizó ejercicio. La decisión a qué grupo ir, fue opción voluntaria del paciente, quienes se motivaron y apoyaron para hacer ejercicio.

Este trabajo fue aprobado por el comité institucional de Bioética de la Universidad del Quindío, en el Acta No. 20 de 2010 (anexo 2). En todos los casos se cumplió con los principios éticos de la declaración de Helsinki 1964 y sus modificaciones hasta el 2008 y la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de la Protección Social de Colombia.

#### **4.3. PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN**

La información se recogió por la investigadora médica, en la fuente primaria con un instrumento diseñado para tal fin con todas las variables del estudio, durante el segundo semestre del año 2011 (anexo 3). Los pacientes se citaron para una valoración inicial, seguimiento clínico al primer mes y control de laboratorio a los 2 meses; en todos los encuentros se hizo educación sobre la HTA y los factores de riesgo cardiovascular.

#### **4.4.DEFINICIÓN DE VARIABLES**

Se definió hipertensión como presión sistólica  $>140$  y /o presión diastólica  $>90$  mmHg, tomada con el individuo sentado<sup>1,60</sup>. Con el peso y la talla se calculó el IMC en  $\text{kg}/\text{m}^2$ , como sobrepeso se define un IMC entre 25,0 y 29,9  $\text{kg}/\text{m}^2$ , y como obesidad un  $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ .

##### **4.4.1. Actividad física y ejercicio físico**

Se define la actividad física (AF) como el “movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que requieren consumo de energía”, mientras que el ejercicio es una AF que se define como “un movimiento corporal planificado, estructurado y repetitivo, realizado para mejorar o mantener uno o más componentes del buen estado físico”<sup>51</sup>.

**Sujetos de estudio y ejercicio físico:** Se clasificaron los pacientes en dos grupos: los que hicieron y los que no hicieron ejercicio físico. Se acordó con cada paciente que ingresó al grupo de ejercicio una actividad física regular ( $\geq 50$  minutos,  $\geq 3$  días/semana durante dos meses)<sup>22</sup>, con una intensidad moderada de 50-60% con respecto a la frecuencia cardíaca máxima. Se llevó a cabo ejercicio físico dirigido por estudiantes de educación física, 3 a 5 veces por semana. El Programa de Educación Física de la Universidad del Quindío, diseñó, aplicó y evaluó las baterías del trabajo del ejercicio físico de acuerdo con la edad y el riesgo cardiovascular (anexo 4). Se definió el efecto del ejercicio físico sobre las variables dependientes, como su variación en dos momentos, se espera mejoría o normalización de las cifras de tensión arterial y aumento de las HDL; las MMP se miden por primera vez en esta población y se quiere conocer su línea base y su variación con la intervención.

##### **4.4.2. Análisis bioquímicos:**

**Muestra sanguínea:** se obtuvo después de doce horas de ayuno por punción venosa en dos tubos secos, el suero se obtuvo por centrifugación a

1000g por 15 minutos, a 4°C, separado en microtubos de 1,5mL tipo eppendorf y almacenado a -20°C hasta su uso. Se tomó una muestra al inicio del protocolo (ejercicio o no ejercicio) y una muestra final al segundo mes de iniciado el protocolo.

**Perfil lipídico.** El colesterol total (CT), los triglicéridos (TG) y colesterol-HDL (c-HDL) se cuantificaron por medio del Kit HDL CHOLESTEROL de Human®. La lectura de absorbancia se realizó a 500nm. Por medio de la ecuación de Friedewald<sup>62</sup> se calculó la concentración del colesterol-LDL (c-LDL), mientras que el colesterol-VLDL se calculó como = TG/5.

$$LDL_{Coolest} = C_{Total} - \left( \frac{Trigl.}{5} + HDL \right)$$

Las muestras en que se encontraron TG mayores de 400 mg/dL, fueron excluidos del estudio.

**Subpoblaciones de HDL:** Se analizaron en plasma, usando el método de Gidez y colaboradores<sup>63</sup> modificado por Berglund y colaboradores<sup>64</sup>, como se describe a continuación:

**Separación c-HDL Total:** Para obtener el plasma de la sangre se centrifugó a 5000rpm durante cinco a diez minutos a 4°C. Se tomaron 500µL de plasma y se agregaron 1000µL del primer reactivo del Kit para la determinación de colesterol HDL total (Kit HDL CHOLESTEROL de Human®) que precipita las demás lipoproteínas. Luego fue centrifugado a 4000g por 10min. El sobrenadante restante se dividió en dos: 100µL para la cuantificación del c-HDL total y el resto para la separación y cuantificación del colesterol HDL3 (c-HDL3).

**Separación c-HDL3:** A un volumen de 1000µL del sobrenadante obtenido en la cuantificación de c-HDL total se le agregaron 100µL de solución dextran

sulfato para obtener una concentración final de este reactivo de 0,09mg/mL, dicha mezcla se dejó reposar por 20 min y se centrifugó por 30 min a 2700rpm a 4°C para finalmente obtener un precipitado que corresponde al colesterol HDL2 (c-HDL2); el sobrenadante obtenido en este paso se utilizó para la cuantificación de HDL3.

**Cuantificación c-HDL total y c-HDL3:** A ambas alícuotas de sobrenadante (colesterol-HDLy colesterol-HDL3) se agregaron 1000µL del reactivo de coloración (Kit HDL CHOLESTEROL de Human®); se dejó reposar a 37°C durante 5min y se realizó la lectura en el espectrofotómetro a 500nm. La concentración de c-HDL2 se calculó restando el valor de c-HDL3 a la concentración del c-HDL total.

**Apolipoproteína A-I:** Los niveles séricos de ApoA-I, se midieron por la técnica de nefelometría, con anticuerpo específico anti apo A-I, según instrucciones del fabricante (Binding Site®). Se tomaron 20µL de la muestra y 580µL de diluyente de muestra en un tubo, se preparó una cubeta para cada muestra con una barrita de agitación y se adicionaron 20µL de la muestra diluida, se colocó la cubeta en la cámara del equipo Minineph® y se adicionaron 400µL del tampón y 40µL del antisuero apoA-I. Se dejaron 30 segundos para el blanco y 190 segundos para la lectura. Los resultados se indican en g/L con un rango de medida aproximada de 0,3-2,4g/L.

**Metaloproteinasas:** Los niveles séricos de MMP2 y MMP9, se midieron por la técnica de ELISA (R&D systems®), con anticuerpo específico siguiendo las indicaciones del fabricante: se colocaron 100µL del diluyente en cada pozo y se adicionaron 50µL ó 100µL del estándar, control o muestra (para MMP2 ó MMP9, respectivamente), se incubaron durante 2 horas en un agitador a 500rpm. Luego se aspiró y lavó 4 veces. Se adicionaron 200µL del conjugado y se incubó durante 2 y 1 hora respectivamente. Se aspiró y lavó nuevamente y se adicionaron 200µL de la solución sustrato y se incubó por

30 min protegido de la luz. Se adicionaron 50 $\mu$ L de la solución stop y se leyó en equipo Biotek® a 450nm con una corrección a 540nm. Los resultados se indican en ng/mL y no existen cifras de referencia para nuestra población.

#### **4.4.3. Procesamiento y análisis de la información**

Se realizó un análisis descriptivo con los datos obtenidos en el primer momento y se calcularon las medias y la desviación estándar de las variables.

Para probar afirmaciones sobre el comportamiento de la población, que se evidencian a través de la muestra, frente a valores de referencia de los parámetros, se hicieron pruebas de hipótesis unilaterales verificando los supuestos de normalidad con la prueba de Kolmogorov Smirnov.

Para comparar las muestras antes y después de una intervención, se utilizaron pruebas ANOVA, verificando el supuesto de homogeneidad de las varianzas y que los residuales tienen distribución normal a través de la prueba de Kolmogorov Smirnov. Si no cumple la hipótesis de normalidad se utilizó una prueba de Kruskal – Wallis. El nivel de significancia se estableció con una  $p < 0,05$ .

Se hizo un análisis bivariado para verificar el efecto del ejercicio en el cambio en cada una de las variables que mostraron variación significativa.

Se ajustaron modelos de regresión múltiple, con selección de variables, para analizar la interdependencia entre las variables cuantitativas y este mismo resultado se utilizó para controlar el efecto de las variables intervinientes en la modificación de los indicadores como resultado del ejercicio físico.

Con un modelo logístico, se analizó el efecto del ejercicio en las variables respuesta, controlando las variables intervinientes que resultaron significativas. Con los resultados de los modelos de regresión múltiple y regresión logística se construyeron diagramas de motricidad–dependencia, entre las variables cuantitativas utilizando técnicas de análisis estructural,

para mostrar el efecto del ejercicio en la estructura de interdependencia entre las variables cuantitativas.

Para el procesamiento estadístico de los datos se utilizó el programa Statgraphics Centurion 15.

Para analizar la estructura de dependencia entre las variables se utilizó la técnica del análisis estructural, brevemente<sup>65</sup>: es una técnica nacida del estructural – funcionalismo, que parte de la definición de estructura de Claude Levi-Strauss, “estructura es una realidad que es estudiada como un sistema, cuyos elementos guardan relaciones de interdependencia”. En la técnica de análisis estructural los elementos (o variables) no son analizados independientemente, sino conformando un sistema, por tanto cada elemento es percibido según las relaciones que tienen con los otros y permite visualizar la manera como un elemento influye sobre los otros dentro la maraña intrincada que es la realidad y detectar cuáles son las variables claves, es decir, aquellas que ejercen mayor influencia sobre las restantes. Para el Análisis Estructural se utilizó el software Mic Mac.

## 5. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados en dos áreas: Descripción de las características generales de la población de estudio y análisis del efecto del ejercicio.

### 5.1 CARACTERISTICAS GENERALES DE LA POBLACION

Se captaron 160 pacientes hipertensos en el programa de riesgo cardiovascular de Redsalud, IPS del primer nivel de atención en el municipio de Armenia, en el primer momento. La tabla 1, muestra la línea base de las variables estudiadas en la población general con hipertensión. El estudio mostró personas con sobrepeso leve y perímetro abdominal aumentado, en quienes la tensión arterial se encontraba controlada.

**TABLA 1. Variables epidemiológicas de la población sin intervención con ejercicio físico.**

VARIABLE	LINEA BASE n= 160 PACIENTES	VALORES DE REFERENCIA
EDAD (años)	61,28 ± 13,37	No aplica
TALLA (cm)	1,56±0,008	No aplica
PESO (kg)	67,14±1,03	No aplica
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27,46± 4,72	<b>20 a 25</b>
PA (cm)	93,43±0,85	<b>M&lt;90 – F&lt;80</b>
TAS	134,37±1,5	<b>&lt; 120 mm Hg</b>
TAD	81,18±0,75	<b>&lt; 80 mm Hg</b>

IMC: Índice de masa corporal. PA: Perímetro abdominal. TA: Tensión arterial. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica.

**TABLA 2. Variables bioquímicas en la población sin intervención con ejercicio físico.**

<b>VARIABLE</b>	<b>LINEA BASE</b> <b>n= 160 PACIENTES</b>	<b>VALORES REFERENCIA</b>	<b>DE</b>
CT (mg/dL)	188,33 ± 2,76	<b>60 – 200 mg/dL</b>	
TG (mg/dL)	131,83±7,15	<b>Hasta 150 mg/dL</b>	
HDL (mg/dL)	31,85±8,26	<b>40-60 mg /dL</b>	
HDL2 (mg/dL)	12,36±0,51	No aplica	
HDL 3 (mg/dL)	19,41±0,41	No aplica	
<b>ApoA-I (g/L)</b>	1,408±0,20	<b>1,24 – 2,02</b>	
<b>MMP2 (ng/mL)</b>	42,41±0,97	No aplica	
<b>MMP9 (ng/mL)</b>	4,99±0,27	No aplica	

CT: Colesterol total. TG: Triglicéridos. HDL: Lipoproteínas de alta densidad. HDL2: HDL subfracción2. HDL3: HDL subfracción3. apoA-I: Apolipoproteína A1. LDL: Lipoproteínas de baja densidad. VLDL: IA: Índice arterial. MMP2: Metaloproteínasa-2 de la matriz. MMP9: Metaloproteínasa-9 de la matriz.

El perfil lipídico fue normal, excepto por las HDL que se encontraron por debajo de los estándares internacionales, razón por la cual se llevó cabo una prueba de hipótesis. La hipótesis nula es que las HDL del estudio, se encuentran dentro de los valores de referencia (40-60 mg/dL)<sup>20</sup>. La hipótesis alternativa es que los valores del estudio son menores que los valores de referencia. Mediante la prueba de hipótesis, se rechazó la hipótesis nula, es decir, podemos afirmar que las HDL de la población a estudio se encuentran por debajo de las cifras establecidas como normales con una probabilidad de error menor de 0,05. Los niveles de HDL3 fueron mayores a los de las HDL2 con la apo A-I en niveles normales (IC95%).

La tabla 3, muestra que presentan variación significativa por género : talla, colesterol, apoA-I, HDL, HDL2, HDL3 y LDL. La apoA-I y las HDL, HDL2 y HDL3 son más altas en las mujeres que en los hombres.

**TABLA 3. Resultados en población general por género n = 160 pacientes.**

VARIABLE	FEMENINO n = 111 personas	MASCULINO n = 49 personas	P (IC 95%)
EDAD (años)	61,51±1,28	60,95±1,91	P = 0,8089
TA (mm/Hg)	134/81	133/79	
TAS (mm/Hg)	134,90±1,88	133,06±2,82	P = 0,5865
TAD (mm/Hg)	81,86±0,92	79,69±1,38	P = 0,1961
PESO (kg)	65,62±1,25	70,63±1,87	P = 0,0276
TALLA (cm)	1,52±0,006	1,64±0,009	<b>P = 0,0000</b>
IMC	28,11±0,44	26,05±0,66	P = 0,0110
PA (cm)	93,00±1,03	94,57±1,54	P = 0,3991
CT (mg/dL)	196,02±3,26	170,54±4,86	<b>P = 0,0000</b>
TG (mg/dl)	184,25±7,78	176,04±11,55	P = 0,5569
HDL (mg/dl)	33,36±0,76	28,38±1,13	<b>P = 0,0004</b>
HDL2 (mg/dl)	13,15±0,58	10,50±0,57	<b>P = 0,0125</b>
HDL 3 (mg/dl)	20,09±0,52	17,88±0,78	<b>P = 0,0206</b>
ApoA-I (g/l)	1,45±0,024	1,30±0,035	<b>P = 0,0006</b>
LDL (mg/dl)	126,029±3,08	106,491±4,60	<b>P = 0,0007</b>
VLDL (mg/dl)	36,72±1,54	35,27±2,31	P = 0,6027
IA	5,87±0,17	6,01±0,25	P = 0,6128
MMP2 (ng/ml)	41,51±1,44	44,38±2,12	P = 0,2672
MMP9 (ng/ml)	2,20±0,199	2,00±0,294	P = 0,5769

IMC: Índice de masa corporal. PA: Perímetro abdominal. TA: Tensión arterial. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica. CT: Colesterol total. TG: Triglicéridos. HDL: Lipoproteínas de alta densidad. HDL2: HDL subfracción2. HDL3: HDL subfracción3. apoA-I: Apolipoproteína A-I. LDL: Lipoproteínas de baja densidad. VLDL: IA: Índice arterial. MMP2: Metaloproteínasa-2 de la matriz. MMP9: metaloproteínasa-9 de la matriz.

## 5.2 ANÁLISIS DEL EFECTO DEL EJERCICIO

Al segundo momento, dos meses después, acudieron 125 pacientes, es decir un 78,12 % del primer momento. Inicialmente se había calculado la muestra para una población infinita con un error de muestreo del 5% y un nivel de confianza del 95 %. Con la respuesta ya descrita, se ajusta el error muestral al 7,5 %, con igual nivel de confianza.

De las 125 personas que participaron hasta la finalización del proyecto, las 35 personas que hicieron ejercicio físico representan un 28%. Los pacientes acudieron a ejercicio físico dirigido por los estudiantes de educación física de la Universidad del Quindío, 50, 100 y 150 min a la semana, durante los dos meses, de lo cual se llevó un registro detallado.

La tabla 4 muestra las variables epidemiológicas de la población total. La tensión arterial sistólica y diastólica disminuyeron significativamente 10 y 5 mmHg ( $P=0,00$ ), respectivamente. También disminuyeron significativamente en el grupo que hizo ejercicio físico en 13 y 7 mmHg ( $P=0,00$ ), respectivamente.

Llama la atención que el IMC de las personas que hicieron ejercicio es mayor que el de las personas que no hicieron ejercicio. A pesar que la diferencia no es significativa entre los 2 grupos, es posible que el reconocimiento del sobrepeso fuera uno de los factores que los motivaron para hacerlo. La TAS disminuyó significativamente en el grupo que hizo ejercicio 13 mmHg y en el grupo que no hizo ejercicio 9 mmHg. Y la TAD disminuyó significativamente 7 y 5 mmHg respectivamente. Sin embargo, a pesar que la disminución fue significativa en ambos grupos independientemente, al comparar la variación entre ambos grupos, la diferencia no es significativa para la TAS ( $P=0,12$ ), ni para la TAD ( $P=0,20$ ).

**TABLA 4. Variables epidemiológicas de la población antes y después del ejercicio.**

VARIABLE	POBLACION TOTAL		NO HIZO EJERCICIO		SI HIZO EJERCICIO	
	n =125		n = 90		n = 35	
P (IC 95%)	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	27,46±4,72	27,27±5,15	27,25±4,73	26,94±5,25	28,47±4,63	28,33±4,67
<b>Valor P</b>		P=0,74		P= 0,68		P= 0,89
<b>PA (cm)</b>	93,43±0,85	92,57±0,96	93,45±10,85	92,84±0,35	93,57± 10,76	92,04±11,05
<b>Valor P</b>		P=0,50		P= 0,68		P= 0,56
<b>TAS-mm/Hg</b>	134,37±1,5	124,23±1,7	134,0±20,08	125,18,38	135,91±18,1	122,36±16,9
<b>Valor P</b>		P=0,00		P=0,00		P=0,00
<b>TAD-mm/Hg</b>	81,18±0,75	76,54±0,85	81,0±10,29	76,92±9,59	82,42±7,98	75,85±8,26
<b>Valor P</b>		P=0,00		P=0,00		P=0,00

IMC: Índice de masa corporal. PA: Perímetro abdominal. TA: Tensión arterial. TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica.

En la tabla 5, se observa que las HDL presentan aumento significativo en la población general (P=0,00). El índice arterial bajó en el ambos grupos de manera no significativa.

Las HDL2 aumentaron significativamente (P=0,00), mientras las HDL3 descendieron de forma no significativa; la apoA-I, presentó un aumento, que parece ser importante, pues la probabilidad error tipo 1 es de sólo 6,7% (P=0,0670). Los otros componentes del perfil lipídico no presentaron una variación significativa.

**TABLA 5. Variables bioquímicas de la población antes y después del ejercicio.**

VARIABLE	POBLACION TOTAL		NO HIZO EJERCICIO		SI HIZO EJERCICIO	
	n = 125		n = 90		n = 35	
P (IC 95%)	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES	ANTES	DESPUES
<b>CT (mg/dL)</b>	188,33±2,76	194,2±3,13	187,73±37,2	193,24±35,8	190,6±31,3	199,60±31,29
<b>Valor P</b>		P=0,17		P=0,27		P=0,99
<b>TG (mg/dL)</b>	131,83±7,15	176,53±8,08	185,76±85,11	186,48±111,6	170,1±68,8	168,41±111,6
<b>Valor P</b>		P=0,66		P=0,95		P=0,94
<b>HDL (mg/dL)</b>	31,85±8,26	36,20±8,46	31,38±8,5	35,96±8,7	33,42±7,29	36,42±7,82
<b>Valor P</b>		P=0,00		P=0,00		P=0,10
<b>HDL2(mg/dL)</b>	12,36±0,51	17,56±0,58	12,23±6,0	16,98±7,0	13,02±6,69	19,11±5,43
<b>Valor P</b>		P=0,00		P= 0,00		P= 0,00
<b>HDL3(mg/dl)</b>	19,41±0,41	18,61±0,47	19,05±5,59	19,09±4,71	20,40±5,44	17,30±4,48
<b>Valor P</b>		P=0,20		P=0,95		P=0,01
<b>apoA-I (g/L)</b>	1,41±0,20	1,47±0,23	1,40±0,26	1,45±0,26	1,43±0,221	1,49±0,234
<b>Valor P</b>		P= 0,06		P=0,21		P=0,33
<b>LDL (mg/dl)</b>	120,34±2,57	122,82±2,93	119,35±34,36	120,21±32,1	123,25±30,76	129,83±33,28
<b>Valor P</b>		P=0,53		P=0,85		P=0,39

<b>VLDL(mg/dl)</b>	36,20±1,42	35,18±1,61	37,07±17	37,25±22,32	123,25±30,76	129,83±33,28
<b>Valor P</b>		P=0,64		P=0,94		P=0,39
<b>IA</b>	5,91±0,12	5,36±0,14	5,97 ± 1,38	5,38±1,76	5,71±1,87	5,48 ±1,63
<b>Valor P</b>		P=0,23		P=0,20		P=0,48
<b>MMP2(ng/ml)</b>	42,41±0,97	54,86±1,10	42,27±15,05	54,76±8,34	42,52±14,32	55,11±6,29
<b>Valor P</b>		P=0,00		P=0,00		P=0,00
<b>MMP9(ng/ml)</b>	4,99±0,27	2,51±0,31	4,81±3,66	2,59±2,84	5,47±5,18	2,23±1,35
<b>Valor P</b>		P=0,00		P=0,00		P=0,00

CT: Colesterol total. TG: Triglicéridos. HDL: Lipoproteínas de alta densidad. HDL2: HDL subfracción2. HDL3: HDL subfracción3. APOA1: Apolipoproteína A1. LDL: Lipoproteínas de baja densidad. VLDL: IA: Índice arterial. MMP2: Metaloproteínasa 2 de la matriz. MMP9: metaloproteínasa 9 de la matriz.

En los pacientes que hicieron ejercicio físico, no hay un aumento significativo de las HDL, sin embargo, las HDL2 presentan un aumento altamente significativo (P=0,00), mientras las HDL3 disminuyen significativamente (P=0,01). La ApoA-I tiende a aumentar en ambos grupos pero no alcanza significado estadístico.

En los pacientes que hicieron y que no hicieron ejercicio físico hubo aumento de las HDL2 significativamente. Sin embargo, las HDL3 bajaron significativamente sólo en el grupo que hizo ejercicio.

Con relación a las MMP en la población general se encontró que la MMP2 aumentó en un 29,3% y la MMP9 disminuyó en un 40,76%, ambas de manera significativa. En la población que hizo ejercicio, la MMP2 aumentó

(29,6%; IC95%) y la MMP9 disminuyó (40,7%; IC95%), ambas significativamente. Así mismo, la MMP2 subió y la MMP9 bajó significativamente en la población que no hizo ejercicio físico.

La apoA-I, las subfracciones de las HDL y las MMP2 y MMP9 tuvieron variaciones similares en la población general, en quienes hicieron ejercicio y quienes no hicieron ejercicio, razón por la cual, para precisar el efecto del ejercicio se hizo análisis bivariado y posteriormente, una regresión múltiple y una regresión logística, cuyos resultados vemos a continuación.

### 5.2.1. Relación entre los niveles séricos de la MMP2, la MMP9, las subfracciones de HDL2, HDL3 y ApoA-I, en la población estudiada.

Para explicar el nivel de dependencia entre las variables que cambiaron significativamente, se realizó un análisis de regresión múltiple. Los resultados se muestran en la tabla 6.

**TABLA 6. Relación y significancia entre las variables que tuvieron variación significativa.**

VARIABLES DEPENDIENTES	VARIACION EXPLICADA					
	MMP	EDAD	T.A.	HDLs	OTROS	
<b>TAS</b>	R <sup>2</sup> =0,33	-	EDAD P=0,0000	TAD P=0,0000	-	-
<b>TAD</b>	R <sup>2</sup> =0,33	-	EDAD P=0,0255	TAS P=0,0000	-	-
<b>HDL2</b>	R <sup>2</sup> =0,99	-	-	-	HDL3 P=0,0000	CT LDL
<b>HDL3</b>	R <sup>2</sup> =0,29	-	-	TAD P=0,0200	HDL2 P=0,0002	CT TG IA
<b>APOA-I</b>	R <sup>2</sup> = 0,0	La variación explicada de ApoA-I, depende de estas variables en un 0,0%, P=0,2694				
<b>MMP2</b>	R <sup>2</sup> =0,07	MMP9 P=0,0024	-	-	-	-
<b>MMP9</b>	R <sup>2</sup> =0,07	MMP2 P=0,0024	-	-	-	-

TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica. HDL2: HDL subfracción2. HDL3: HDL subfracción3. apoA-I: Apolipoproteína AI. MMP2: Metaloproteínasa 2 de la matriz. MMP9: Metaloproteínasa 9 de la matriz. CT: Colesterol total. TG: LDL: Lipoproteínas de baja densidad. IA: Índice arterial.

La TAS y la TAD son dependientes en 33% de la edad y entre ellos mismos. Por otro lado las HDL2 dependen de las HDL3, el CT y las LDL en casi un

100%. Mientras que las HDL3 dependen de las HDL2, el CT y la TAD en cerca de 30%. En estas circunstancias, la variación de la ApoA-I no depende de estas variables. Las MMP2 y MMP9 tienen una relación de dependencia de un 7,5%.

### 5.2.2. Efecto del ejercicio físico

Para establecer el efecto del ejercicio físico sobre las variables que tuvieron un cambio significativo, se realizaron dos tipos de análisis, un análisis bivariado y una regresión logística. El análisis bivariado presenta una variación significativa relacionada con el ejercicio, en las HDL3 ( $P=0,0236$ ) y en la tensión arterial sistólica ( $P=0,0448$ ), tabla 7.

**TABLA 7. Efecto del ejercicio físico sobre variables que tuvieron cambio significativo**

<b>CAMBIO EN LA VARIABLE</b>	<b>Chi cuadrado</b>	<b>P valor</b>
<b>TAS</b>	8,06	<b>0,0448</b>
<b>TAD</b>	3,08	0,3798
<b>ApoA-I</b>	1,68	0,6416
<b>HDL2</b>	1,97	0,5794
<b>HDL3</b>	9,48	<b>0,0236</b>
<b>MMP2</b>	3,23	0,2571
<b>MMP9</b>	3,21	0,3610

TAS: Tensión arterial sistólica. TAD: Tensión arterial diastólica. HDL2: HDL subfracción2. HDL3: HDL subfracción3. apoA-I: Apolipoproteína A1. MMP2: Metaloproteínasa-2 de la matriz. MMP9: Metaloproteínasa-9 de la matriz

El análisis bivariado es una buena aproximación, sin embargo, la regresión logística, nos permite un análisis más cercano a la realidad, donde múltiples variables interactúan simultáneamente.

### 5.2.3. Significancia del tiempo de ejercicio sobre la TAS, la MMP2 y la MMP9

El análisis de regresión logística se hizo para determinar el efecto del ejercicio sobre las variables que tuvieron una variación significativa, dentro del cual el odds ratio (OR) ó cociente de probabilidades muestra que en tres variables la posibilidad de modificación depende del tiempo de ejercicio: la tensión arterial sistólica, la MMP2 y la MMP9 (tabla 8).

**TABLA 8. Significancia del tiempo de ejercicio físico sobre la TAS, la MMP2 y la MMP9**

VARIABLE	VARIACION EXPLICADA	EJERCICIO VALOR P	TIEMPO DE EJERCICIO	ESTIMACION	ODDS RATIO (IC 95 %)
<b>TAS</b>	$R^2=0,13$	P=0,0031	50 min	-0,1020	0,9029
			100 min	1,8491	6,35411
			150 min	14,8014	2,68015E6
<b>MMP2</b>	$R^2=0,22$	P=0,0031	50 min	0,0810562	1,08443
			100 min	0,511093	1,66711
			150 min	16,7955	1,96869E7
<b>MMP9</b>	$R^2=0,13$	P=0,0504	50 min	0,0148611	0,985249
			100 min	-1,62026	0,197848
			150 min	0,722429	2,0594

TAS: Tensión arterial sistólica. MMP2: Metaloproteinasa-2 de la matriz. MMP9: Metaloproteinasa-9 de la matriz.

Con respecto a la tensión arterial sistólica (TAS), se encontró que la posibilidad que disminuya con 50 minutos de ejercicio a la semana es menor de 1 (0,90), con 100 minutos de ejercicio es de 6,35 veces y con 150 minutos de ejercicio es muy alta, comparada a cuando hace cero ejercicio a la semana.

Para la MMP2, la posibilidad que aumente con 50 minutos de ejercicio a la semana es de 1,08 veces, con 100 minutos semanales es de 1,66 y con 150 minutos es muy alta, comparada a cuando hace cero ejercicio a la semana.

Y finalmente para la MMP9, la posibilidad que disminuya con 50 y 100 minutos de ejercicio a la semana es menor de 1 (0,98 y 0,19 veces) y con 150 minutos es 2,05 veces respectivamente, comparada a cuando hace cero ejercicio a la semana.

#### 5.4 MODELO DE RELACIONES ENTRE LAS VARIABLES DEL ESTUDIO.

La figura 17, muestra Las relaciones que el estudio evidenció en la población general, a través del análisis estadístico, antes del ejercicio físico. El modelo muestra tres grupos de variables que se relacionan dentro del grupo, pero no entre ellas. El primer grupo muestra las relaciones de interdependencia entre las variables del perfil lipídico, se excluye de este grupo la apoA-I. El segundo grupo son variables fisiológicas (TAS Y TAD), dependiendo de la edad. Y el tercer grupo las MMP2 y MMP9 dependiendo entre sí.

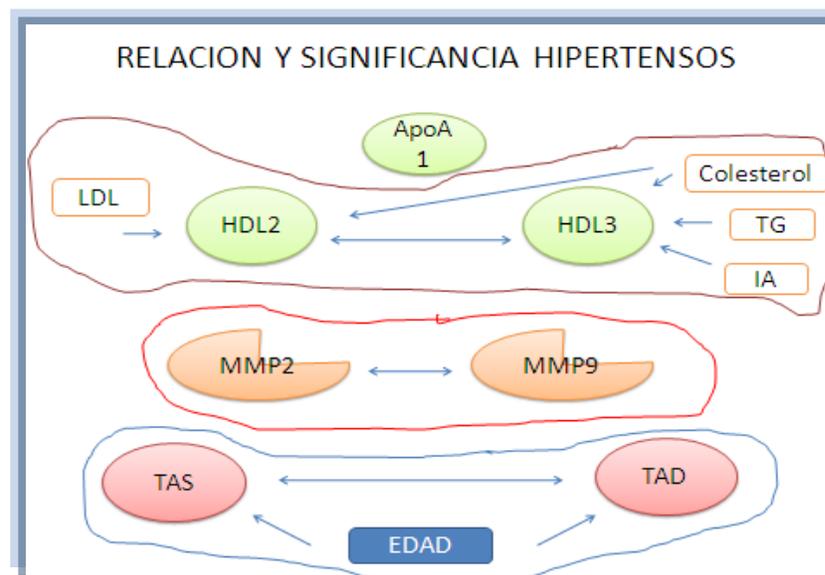


Figura 17 : Relación y significancia antes del ejercicio físico.

La figura 18 muestra la relación y significancia de las variables en personas hipertensas en respuesta al ejercicio. Con disminución significativa de la TAS, la TAD y las HDL3 y un aumento significativo de las HDL2 y la MMP2.

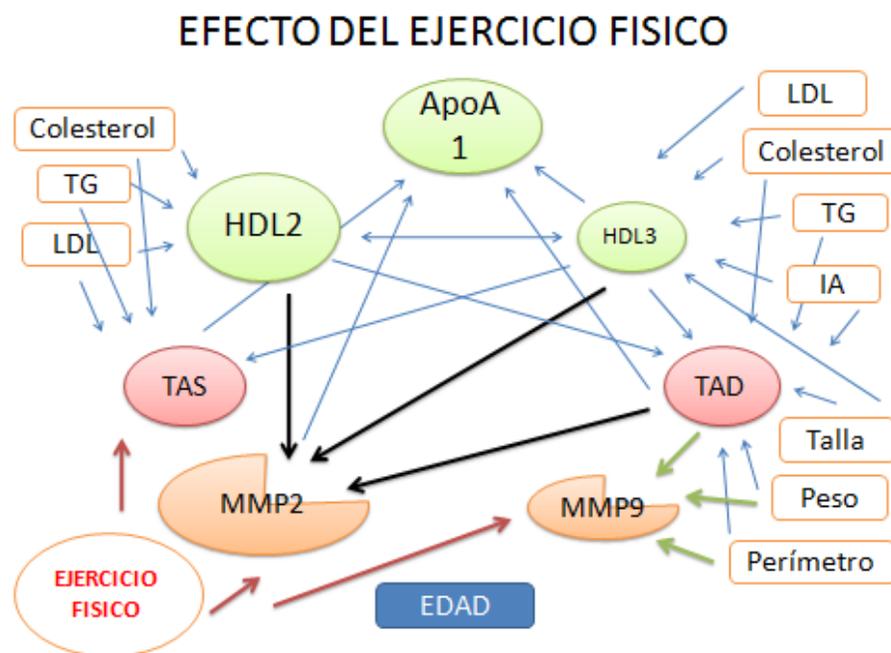


Figura 18 : Relación y significancia en respuesta al ejercicio

La figura muestra la relación entre el grupo de variables del perfil lipídico, pero incluyendo una relación activa entre la apoA-I y las HDL3. Además se establecen relaciones entre las variables fisiológicas (TAS,TAD), las variables antropométricas y las MMP2 y MMP9, generando así otras relaciones más complejas y menos compartimentalizadas.

## 5.5 MOTRICIDAD E INFLUENCIA ANTES Y DESPUÉS DEL EJERCICIO

La fuerza de la influencia de una variable sobre las otras se analizó a través del análisis estructural, en la población general, antes y después del ejercicio.

Antes del ejercicio, el análisis evidencia que la variable de mayor poder y motricidad es las HDL2, que mueven a la apoA-I, que a su vez mueve a las HDL3 y a la MMP2. Su influencia es muy fuerte sobre estas variables (figura 19).

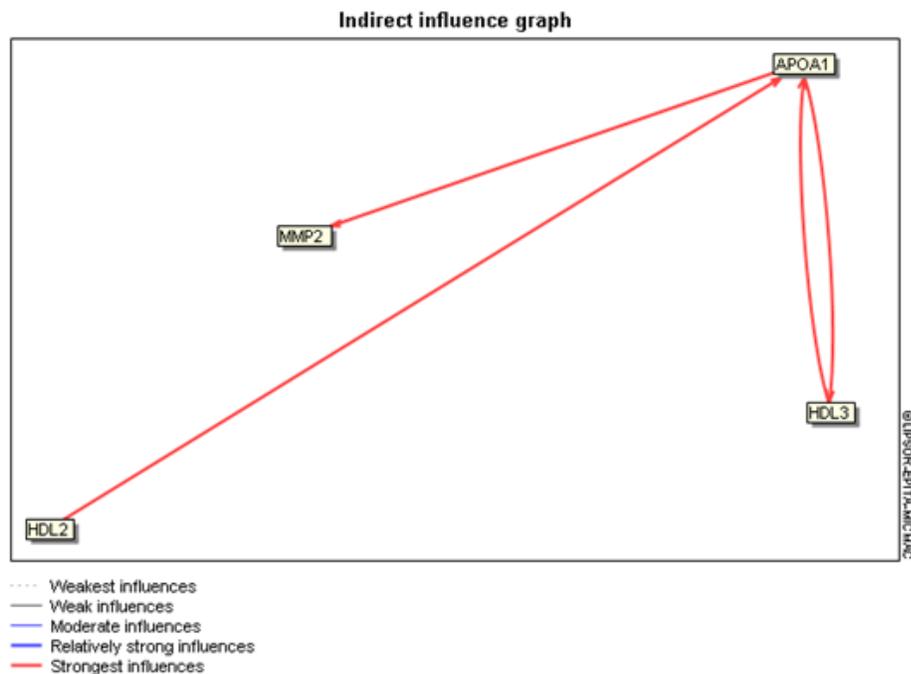


Figura 19. Análisis estructural y motricidad antes del ejercicio

En el segundo momento, en respuesta al ejercicio, el análisis evidenció que la variable de mayor poder es la MMP2 quien influencia (mueve) las relaciones establecidas sobre las HDL2, que a su vez mueve a la TAD, con una influencia muy fuerte. La MMP2 también mueve a las HDL3 y a la TAD, con una influencia relativamente fuerte (figura 20).

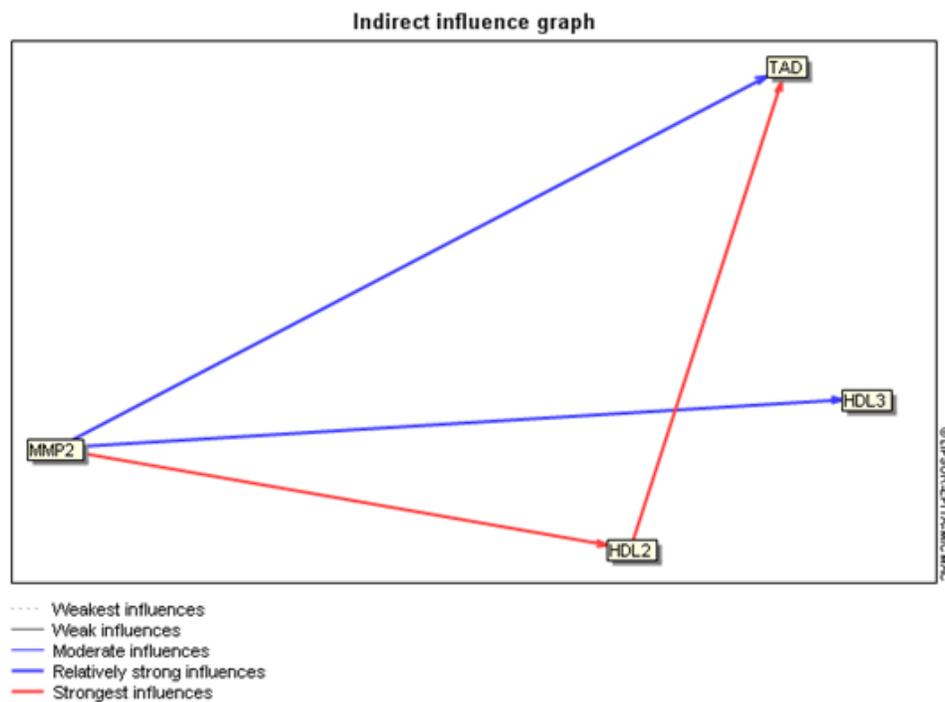


Figura 20. **Análisis estructural y motricidad después del ejercicio**

## 6. DISCUSIÓN

En este trabajo se investigó el efecto del ejercicio físico sobre algunas variables bioquímicas, fisiológicas y antropométricas, tales como la tensión arterial, las subfracciones de las HDL2 y HDL3 y, las MMP2 y MMP9, en personas hipertensas de un programa de riesgo cardiovascular en el municipio de Armenia - Quindío.

Está demostrado que la actividad física practicada con regularidad reduce el riesgo de cardiopatías coronarias y accidentes cerebrovasculares, diabetes tipo 2, hipertensión, cáncer de colon, cáncer de mama, depresión y osteoporosis. Además, la actividad física es un factor determinante en el consumo de energía, por lo que es fundamental para conseguir el equilibrio energético y el control del peso<sup>21-24,66,67</sup>.

Hamer<sup>68</sup>, mostró que el ejercicio físico disminuye la PA de forma multifactorial, en esta disminución están implicados diferentes mecanismos antiinflamatorios, neurohumorales, de adaptación estructural y genéticos, que confluyen en una acción común, como la disminución de la RVP<sup>69</sup>.

En el presente trabajo, se encontró que el ejercicio físico redujo la tensión arterial sistólica y diastólica en 8,95% y 7,97% respectivamente. Según el Ministerio de Salud de Colombia, la reducción de 5-6 mmHg en la presión arterial disminuye de 20 -25% el riesgo de ECV<sup>1</sup>.

Sin embargo, también se encontró que la población que no hizo ejercicio tuvo una disminución de la tensión arterial sistólica y diastólica de 7,54% y 5,71%, respectivamente. Existen varias explicaciones que sustentan este cambio a pesar de no hacer ejercicio; la más simple apunta a una mejor adherencia al tratamiento antihipertensivo por el simple hecho de

encontrarse participando en un estudio. Otras explicaciones se basan en el proceso de educación y motivación recibidas durante el estudio, pero es posible que sea una combinación de varias de ellas.

En esta investigación también se evaluaron los componentes del perfil lipídico, se encontró que las concentraciones de CT, triglicéridos, VLDL y LDL, además de estar dentro del rango de valores normales, no fueron modificadas significativamente por el ejercicio. Pero otros estudios muestran una disminución del CT, los triglicéridos y otras variables del perfil lipídico con el ejercicio<sup>70</sup>, posiblemente sea porque en este trabajo la población a estudio ya estaba en un programa de control de riesgo cardiovascular y su perfil lipídico de punto de partida estaba normal, contrario al estudio anterior.

Con relación a las HDL, se encontró que estas lipoproteínas se encuentran por debajo de las cifras establecidas como normales, lo cual confirma estudios anteriores de población de riesgo cardiovascular en la región y el país<sup>9,71</sup>. Sin embargo, hubo un aumento significativo en un 8,2% con el ejercicio durante 50 minutos tres veces a la semana por dos meses. Hay un acúmulo de evidencia que muestra como el ejercicio aeróbico aumenta los niveles de HDL entre un 5-10%<sup>72</sup>.

Pero la variación en los niveles de las HDL por el ejercicio no sólo ocurrió en las HDL totales sino también en las subfracciones. Las HDL comprenden un grupo heterogéneo de lipoproteínas que pueden clasificarse por tamaño según el método de separación<sup>30,32</sup>, por precipitación iónica se obtienen dos subfracciones las HDL3 pequeñas y densas cuyo contenido es pobre en ésteres de colesterol y las HDL2 más grandes y menos densas, con alto contenido en ésteres de colesterol y triglicéridos<sup>63,64</sup>. Ambas subfracciones tienen a la apoA-I como proteína principal<sup>26</sup>. En la circulación estas subfracciones intercambian contenidos entre sí debido a las acciones de diversas enzimas y cofactores incluidas en el transporte reverso del

colesterol. El efecto ateroprotectivo de las HDL se ha demostrado por mecanismos dependientes y no dependientes del TRC<sup>26-28,73</sup>. En nuestro estudio se identificó que en los pacientes que hicieron ejercicio, las HDL2 subieron (31,92%,  $p < 0,00008$ ) y las HDL3 bajaron (15,19%,  $p < 0,00001$ ), la apoA-I se encontró antes del ejercicio en niveles normales ( $1,40 \pm 0,20$  g/l) y tuvo un aumento aunque no fue significativo (3,56%,  $p = 0,3305$ ). Probablemente el ejercicio generó una transformación en la capacidad transportadora de ésteres de colesterol, pues se conoce que en el transporte reverso del colesterol, las HDL3 maduras se transforman en HDL2 por la acción de la LCAT (lecitin colesterol acil transferasa), la cual esterifica el colesterol libre que está en la superficie y lo introduce al centro de la lipoproteína<sup>36-38</sup>. Esto podría explicar la disminución de las HDL3 y el aumento de las HDL2 con apoA-I en un proceso de aumento no significativo encontrado en este estudio para los pacientes que hicieron ejercicio. Aunque la función de las HDL3 y HDL2 en la enfermedad cardiovascular aún es contradictoria algunos autores afirman que el tamaño de la subpoblación tiene efectos diferentes sobre los receptores celulares relacionados con la captación y eflujo celular del colesterol como son el ABCA1 y SR-BI<sup>74-75</sup>. Así Thuahnai y colaboradores en su trabajo concluyen que las partículas de HDL grandes (en este caso HDL2) son capaces de llevar más ésteres de colesterol que las más pequeñas (HDL3)<sup>76</sup>. Además, los mismos autores muestran que las partículas de HDL grandes a través del receptor SRBI promueven mejor el eflujo de colesterol desde las células que las partículas pequeñas, cuando están en la misma concentración<sup>76</sup>. Aunque se desconocen los mecanismos exactos por los que esta interacción ocurre y también se desconocen los mecanismos por los cuales aumentaron las HDL2 en los grupos de estudio en el presente trabajo y disminuyeron las HDL3 sólo en los que hicieron ejercicio, lo que sí muestra este trabajo es que a través del ejercicio físico no sólo se pueden aumentar las HDL totales, sino lo más importante, se pueden modificar las subpoblaciones de HDL en una relación

que favorece aquellas de mayor tamaño, menor densidad y mayor capacidad de transporte de ésteres de colesterol.

Estos resultados son similares a estudios en otra población en donde el incremento de las HDL en respuesta al ejercicio ocurrió a expensas de las HDL2 y de la apoA-I<sup>77</sup>.

En este trabajo también se investigó el comportamiento de las MMP, conocidas como gelatinasas; la MMP2 hidroliza una gran variedad de sustratos y su actividad biológica está asociada muchos procesos fisiopatológicos que incluyen la enfermedad cardiovascular, en la cual juega un rol de pivote entre la vasoconstricción y la vasodilatación<sup>37</sup>. Sobre la MMP9, algunos estudios la muestran como indicador de RCV, al hacer disrupción de la placa aterosclerótica<sup>44,57</sup>.

Los resultados del presente trabajo muestran que en la población de hipertensos que hicieron ejercicio, la MMP2 aumentó en un 29,6% (de 42,52 a 55,11ng/ml,  $p < 0,00008$ ) y la MMP9 disminuyó en 40,7% (de 5,47 a 2,23ng/ml,  $p < 0,0005$ ). Al respecto algunos estudios muestran la MMP2 y la MMP9 se encuentran aumentadas en la hipertensión sistólica aislada, mientras los niveles de MMP9 se encuentran relacionados con la rigidez aórtica<sup>78</sup>. Otros estudios como el de Zervoudaki y colaboradores<sup>6</sup>, describen que la MMP2 y MMP9 suben a niveles similares a los de una población sana en respuesta al tratamiento con un medicamento hipotensor como el amlodipino. El aumento de las MMP2 en respuesta al ejercicio encontrado en el presente estudio, concuerdan con el estudio de Shigemoto y colaboradores, quienes encontraron que ratas ovariectomizadas muestran bajos niveles de MMP2, pero esta enzima aumenta en respuesta al ejercicio, en cambio las MMP2 bajan en ratas sedentarias; proponen los autores que esta intervención es eficiente en revertir los efectos deletéreos de la ovariectomía, similares a los de menopausia<sup>79</sup>. Así mismo, el aumento de las

MMP2 y la disminución de la MMP9 en respuesta a un factor reconocido como protector, como el ejercicio físico, coincide con la conclusión que Sbardella colaboradores en 2012 afirman que “El rol de las MMP2 y MMP9 se ha soportado in vivo e in vitro con distintos y a veces opuestos patrones, consistente con la noción que la MMP9 tiene propiedades inflamatorias, mientras que la MMP2 tiene facultades pro-homeostáticas”<sup>37</sup>. Esta conclusión es ratificada en el presente trabajo en el sentido que el ejercicio aumento la MMP2 (propiedades prohomeostáticas) y disminuyó la MMP9 (propiedades proinflamatorias).

Cómo se relacionan los cambios encontrados en los niveles de HDL, las subfracciones de HDL, la apoA-I y las MMP en respuesta al ejercicio? Las MMP han sido implicadas en la progresión de la placa aterosclerótica, según varios estudios, en su forma activa pueden contribuir a la migración de células musculares lisas con formación de una nueva íntima y disrupción de la placa<sup>4,80</sup>.

Algunos estudios como los de Lindstedt<sup>10</sup> y Eberini<sup>49</sup> han demostrado que varios miembros de la familias de las MMP (MMP3, MMP7, MMP12) degradan las HDL, especialmente las HDL3, reduciendo su capacidad de promover el eflujo de colesterol desde los macrófagos. Estos mismos estudios demuestran que la degradación de estas subfracciones de HDL está basada en la hidrólisis de la apoA-I (una apoproteína de 28kDa) en su región carboxilo terminal, generando fragmentos de 26, 22, 14 y 6 kDa<sup>49</sup>. En nuestro estudio disminuyeron las HDL3, y subieron las HDL2, sin embargo, la apoA-I estaba inicialmente en niveles normales y aumentó después del ejercicio, aunque no significativamente. Es posible que haya aumentado la síntesis, pero por la hidrólisis también aumentó la tasa de catabolismo de la apoA-I y en consecuencia los niveles plasmáticos permanecen sin cambio aparente.

Es posible que la reducción de las HDL3 se diera por su transformación en HDL2, tomando como base que se mantuvo la concentración de ApoA-I y que múltiple evidencia indica que la lipidación de la apoA-I por el receptor ABCA1 es un paso clave en la maduración de las HDL<sup>81</sup>; un segundo paso de lipidación esencial para la maduración de las HDL es la activación de la enzima LCAT por la apoA-I. La activación de esta enzima resulta en la síntesis de ésteres de colesterol en las partículas de HDL<sup>18,82,83</sup> y en la transformación de las HDL3 en HDL2 que justificaría la disminución de la primera y el aumento de la segunda encontrada en este trabajo.

Cuál es entonces el papel de la MMP2 y MMP9 sobre las HDL bajo el efecto del ejercicio en el presente trabajo? El análisis estructural realizado en este estudio, muestra la fuerza de la influencia de una variable sobre las otras en respuesta al ejercicio. Antes del ejercicio la variable de mayor poder y motricidad eran las HDL2, que mueven a la apoA-I, que a su vez mueve a las HDL3 y a la MMP2. Su influencia es muy fuerte sobre las anteriores variables. Después del ejercicio, en este caso, la variable de mayor poder es la MMP2 quien influye (mueve) las relaciones establecidas sobre las HDL2, que a su vez mueven a la TAD, con una influencia muy fuerte. La MMP2 también mueve a las HDL3 y a la TAD, con una influencia relativamente fuerte. Esto significa que desde el punto de vista estadístico existe una relación entre la MMP2 y las HDL2 que no pudo ser evidenciado de manera experimental directamente por este estudio. Bellostá y colaboradores mostraron que la preservación del contenido cardiaco de MMP2 por las HDL, mejora la función y contractilidad post isquemia y reduce el daño cardiaco, indicando que la activación de la MMP2 preventiva, representa un mecanismo de cardioprotección mediado por HDL<sup>84</sup>. Sobre la relación entre la LCAT y la MMP2, se ha identificado que ambas enzimas tienen como

inhibidor común a la alfa 2 macroglobulina ( $\alpha 2M$ )<sup>85,86</sup> y cómo este inhibidor provoca acciones distintas sobre ambas enzimas es desconocido.

También este trabajo evidenció que el ejercicio cambia las relaciones compartimentalizadas e independientes entre variables (figura 17) y genera una red de relaciones que no estaban presentes en los pacientes hipertensos que no hicieron ejercicio físico. En la figura 18 se observa la relación entre el grupo de variables del perfil lipídico que incluye una relación activa entre la apoA-I y las HDL3; el aumento de las HDL2 y la disminución de las HDL3 influyen en la disminución de la TAD, la disminución de la TAD y las HDL3 y el aumento de las HDL2 influyen en el aumento de la MMP2 mientras que algunas variables antropométricas como el peso y el perímetro abdominal influyen en la disminución de la MMP9.

Al comparar los niveles de MMP2 de los pacientes hipertensos de este estudio con una población joven (de 18 a 29 años) que no hizo ejercicio, según lo establecido por Nieto y colaboradores<sup>87</sup>, para la población joven se encontró que la concentración de MMP2 es más alta en individuos jóvenes que en la población de hipertensos con diferencias significativas ( $p=0,0194$ ); el ejercicio físico parece ubicar a la población hipertensa en cifras de MMP2 similares las que presentan los jóvenes del estudio ( $51,05\pm 5,69$  y  $p=0,0194$ ). En esos jóvenes no hipertensos las cifras de MMP9 fueron de  $5,29\pm 3,03$  y no presentan diferencias con respecto a la población hipertensa de este estudio ( $P=0,4643$ ).

Según estos resultados, el ejercicio parece generar una red de relaciones entre las variables fisiológicas y bioquímicas de los pacientes hipertensos, que son similares a las de organismos jóvenes<sup>87</sup>, en donde se evidencia la relación entre variables antropométricas con la TAS, la TAD, la apoA-I y las

MMP2 y MMP9 (figura 21). Es decir, hay una mayor interacción entre las variables y una menor compartimentalización, lo cual es similar a lo encontrado para la población hipertensa que hizo ejercicio en este estudio (figura 18).

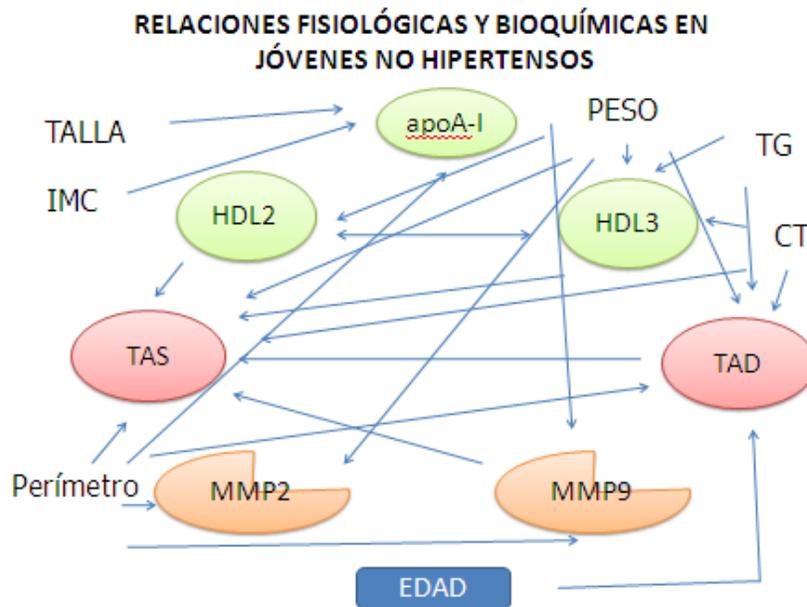


Figura 21. Relaciones fisiológicas y bioquímicas en jóvenes no hipertensos

Por lo tanto y con base en los resultados de este estudio y el análisis estructural se propone un modelo que pretende explicar la interacción entre estas variables fisiológicas y bioquímicas en respuesta al ejercicio (Figura 22).



Es importante anotar que el grupo de personas que hizo ejercicio físico, fue inicialmente de 70 personas, pero sólo asistieron 35 personas, quienes llevaron a cabo el ejercicio 50, 100 y 150 minutos, no porque se haya hecho una división inicial en subgrupos, sino porque en un ensayo comunitario los sujetos de investigación continúan en su vida cotidiana y hubo pacientes que no acudieron a todas las sesiones. Si bien el análisis se llevó a cabo sobre el total de los participantes en el estudio, los 90 que no hicieron ejercicio y los 35 que si lo hicieron; sería deseable que futuras investigaciones tengan grupos mayores, para confirmar los presentes resultados.

Es necesario abordar nuevas investigaciones para tratar de resolver las preguntas que genera este estudio: Cómo se relacionan los mecanismos moleculares del aumento de las HDL2 y la MMP2 y la disminución de las HDL3 y MMP9? Cómo se relacionan el aumento de la MMP2 y las HDL2 con LCAT y CETP, enzimas del transporte reverso del colesterol? Actúa el ejercicio físico sobre la  $\alpha$ 2M? Son las HDL un sustrato de la MMP2 y MMP9? Cuáles componentes de las HDL son un sustrato de las MMP2 y MMP9? O si al aumentar las HDL2, mejora el TRC, posiblemente hay menos sustrato para la formación de placa aterosclerótica y por lo tanto baja la producción de MMP9?

También vale la pena considerar la posibilidad de realizar estudios de 'compliance' arterial por ultrasonido/ecografía para ver si el aumento de MMP2 y disminución de MMP9 pueden tener una relación directa con un remodelado vascular diferente. O de analizar en el futuro poblaciones de leucocitos (monocitos y sus subtipos) por citometría de flujo en la sangre de los sujetos de estudio (con y sin ejercicio) pues puede modularse el estado 'pro-inflamatorio' que padecen los pacientes con HTA y aterosclerosis.

La continuidad en las investigaciones permitirá una aproximación a las respuestas.

## 7. CONCLUSIONES

En conclusión, el análisis estadístico mostró reducción altamente significativa de la tensión arterial sistólica y diastólica en personas que hicieron y no hicieron ejercicio. Las cifras de HDL aumentaron con el ejercicio pero se mantuvieron por debajo de lo normal antes y después del mismo, con niveles normales de apoA-I, la cual aumentó con el ejercicio; las HDL2 aumentaron mientras las HDL3 descendieron significativamente; la MMP2 subió y la MMP9 bajó, ambas significativamente.

El análisis de regresión múltiple mostró que el ejercicio establece relaciones entre variables bioquímicas y fisiológicas que antes estaban independientes. Y el análisis de regresión logística evidenció que el tiempo de ejercicio afecta significativamente la disminución de la TAS, el aumento de la MMP2 y la disminución de la MMP9.

El análisis estructural muestra que antes del ejercicio hay relaciones bioquímicas y fisiológicas compartimentalizadas e independientes unas de otras, después el ejercicio logra establecer una red de relaciones entre las variables, donde la variable de mayor poder es la MMP2 que influye las relaciones establecidas sobre las HDL2, la TAD y HDL3.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ministerio de Salud. 2000. Guía de atención de la hipertensión Arterial. Resolución 412. Bogotá.
2. Alcaldía de Armenia. 2008. Situación de salud en Armenia. Indicadores básicos 2006-2007. Lupita, la que nos ayuda a ver. P10-15.
3. Alcaldía de Armenia. 2009. Boletín epidemiológico Armenia 2008. Lupita, la que nos ayuda a ver. P6-7.
4. Briones AM, Arribas SM, Salaices M. 2010. Role of extracellular matrix in vascular remodeling of hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 19:187-94.
5. Noguera R, Nieto OA, Tadeo I, Fariñas F, Álvaro T. 2012. Extracellular matrix, biotensegrity and tumor microenvironment. An update and overview. *Histol Histopathol.* 27:693-705.
6. Zervoudaki A, Economou E, Stefanadis C, Pitsavos C, Tsioufis K, Aggeli C, et al. 2003. Plasma levels of active extracellular matrix metalloproteinases 2 and 9 in patients with essential hypertension before and after antihypertensive treatment. *J Hum Hypertens.* 17:119–24.
7. Davidson WS, Gangani RA, Silva D, Chantepie S, Lagor WR, Chapman MJ, Kontush A. 2009. Proteomic Analysis of Defined HDL Subpopulations Reveals Particle-Specific Protein Clusters Relevance to Antioxidative Function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 29:870-76.
8. McPherson PAC, Young IS, McKibben B, McEneny J. 2007. High density lipoprotein subfractions: isolation, composition, and their duplicitous role in oxidation. *J. Lipid Res;* 48:86–95.
9. Landázuri P, Loango N, Gallego ML. 2011. Cardiovascular risk factors in first-degree relatives of patients with hypertension. *Colombia Médica.* 42:17-25.
10. Lindstedt L, Saarinen J, Kalkkinen N, Welgus H, Kovanen PT. 1999. Matrix metalloproteinases-3,7, and 12, but Not 9, reduce High Density Lipoprotein-induced cholesterol efflux from Human macrophage foam cells by truncation of the carboxyl terminus of Apolipoprotein A-I. *J Biol Chem.* 274:22627-34.
11. Rajavashisth TB, Xu X-P, Jovinge S, Meisel S, Xu X-O, Chai N-N, et al. 1999. Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase Expression in Human Atherosclerotic Plaques : Evidence for Activation by Proinflammatory Mediators. *Circulation.* 99:3103-3109.
12. Rajavashisth TB, Liao JK, Galis ZS, Tripathi S, Laufs U, Tripathi J, et al. Inflammatory Cytokines and Oxidized Low Density Lipoproteins Increase Endothelial Cell Expression of Membrane Type 1-Matrix Metalloproteinase. *J Biol Chem.* 23:274:11924-9.
13. Hwang IK, Park SM , Kim SY, Lee S-T. A proteomic approach to identify substrates of matrix metalloproteinase-14 in human plasma. *BiochimBiophys Acta.* 1702:79– 87.

14. Kearney PM, Whelton M, Muntner P, Whelton PK, He J. 2005. Global burden of hypertension: Analysis of worldwide data. *Lancet*. 365:217-23.
15. Ludovit Paulis and Thomas Unger. 2010. Novel therapeutic targets for hypertension. *Nature Reviews/Cardiology*. 7:431-41.
16. Aristizábal D, García E, McEwen J, Caulfield M, Méndez J, Medina E, Zapata N. 2006. Bases genéticas de la hipertensión arterial esencial en Colombia: avances en nueve años de estudio. *Rev. Col. Cardiol*. 12:409-30.
17. Hagberg JM, Park JJ, Brown MD. 2000. The role of exercise training in the treatment of hypertension. *Sports Med*; 30:193–206.
18. Rye, K-A, Bursill CA, Lambert G, Tabet F, Barter PJ. 2009. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. *J. Lipid Res*. 50:S195–S200.
19. Zhong S, Sharp DS, Grove JS, Bruce C, Yano K, Curb JD, Tall AR. 1996. Increased coronary heart disease in Japanese-American men with mutation in the cholesteryl ester transfer protein gene despite increased HDL levels. *J. Clin. Invest*. 97:2917–23.
20. National cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on Detection, evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adults Treatment Panel III). 2001. Third Report of the National Cholesterol Education program Adult Treatment III. *JAMA*. 285:2486-98.
21. Charansonney, OL and Despres JP. 2010. Disease prevention-should we target obesity or sedentary lifestyle. *Nat. Rev*; 7:468-72.
22. OMS. 2010. Recomendaciones mundiales sobre actividad física para la salud. P.56.
23. Darren E.R. Warburton, Crystal Whitney Nicol, Shannon S.D. Bredin. 2006. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ*. 174:801-9.
24. Press V, Freestone I, George CF. 2003. Physical activity: the evidence of benefit in the prevention of coronary heart disease. *Q J Med*. 96:245–51.
25. Farquharson C y Benitez L. 2010. Cátedra de Fisiología Humana. Facultad de Medicina. Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.
26. Singh IM, Shishehbor MH, Ansell BJ. 2007. High-Density Lipoprotein as a Therapeutic Target. *JAMA*. 298:786-98.
27. Hoekstra M, Van Berkel TJC, Van Eck M. 2010. Scavenger receptor BI: A multi-purpose player in cholesterol and steroid metabolism. *World J Gastroenterol*. 16:5916-24.
28. Rader DJ. 2006. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *J. Clin. Invest*. 12:3090-100.
29. Thomas, MJ, Bhat S, Sorci-Thomas MG. 2008. Three-dimensional models of HDL apoA-I: implications for its assembly and function. *J. Lipid Res*. 49:1875–83.
30. Schaefer EJ, Heaton WH, Wetzel MG, Brewer HB Jr. 1982. Plasma apolipoprotein A-1 absence associated with a marked reduction of high density lipoproteins and premature coronary artery disease. *Arteriosclerosis*. 2:16–26.

31. Santos-Gallego CG, 2008. Ibanez B, Badimon JJ. HDL-cholesterol: Is it really good? Differences between apoA-I and HDL. *Biochemical pharmacology*. 76:443–52.
32. Warnick GR, Nauck H, Rifai N. 2001. Evolution of Methods for Measurement of HDL-Cholesterol: From Ultracentrifugation to Homogeneous Assays. *Clinical Chemistry*. 47:1579–96.
33. Berglund L, Oliver EH, Fontanez N, Holleran S, Matthews K, Roheim PS, et al. 1999. HDL-subpopulation patterns in response to reductions in dietary total and saturated fat intakes in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. 70:992-1000.
34. Toledo-Ibelles P, García-Sánchez C, Ávila-Vazzini N, Carreón-Torres E, Posadas-Romero C, Vargas-Alarcón G and Pérez-Méndez O. 2010. Enzymatic assessment of cholesterol on electrophoresis gels for estimating HDL size distribution and plasma concentrations of HDL subclasses. *J. Lipid Res*. 51:1610.
35. Warnick GR, McNamara JR, Boggess CN, Clendenen F, Williams PT and Landolt CC. 2006. Polyacrylamide gradient gel electrophoresis of lipoprotein subclasses. *Clinics in Laboratory Medicine*. 26:1-32.
36. Gordon A. F. 2010. The complexity of HDL. *Biochim Biophys Acta* 1801. 1286–93.
37. Sbardella D, Frasciglione GF, Gioia M, Ciaccio Ch, Tundo GR, Marini S, et al. 2012. Human matrix metalloproteinases: An ubiquitous class of enzymes involved in several pathological processes. *Mol Aspects Med*. 33:119-208.
38. Chow AK, Cena J, Schulz R. 2007. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature. *British Journal of Pharmacology*. 152:189–205.
39. Rawlings ND, Barrett AJ, and Bateman A. 2012. MEROPS: the database of proteolytic enzymes their substrates and inhibitors. *Nucleic Acids Res*. 40:D343-D50.
40. Page-McCaw A, Ewald AJ and Werb Z. 2007. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 8: 221–33.
41. Galis ZS, Khatri JJ. 2002. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*. 90:251-62.
42. Overall CM. 2004. Dilating the degradome: matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) cuts to the heart of the matter . *Biochem. J*. 383:e5–e7.

43. Rodríguez, D, Morrison CJ, Overall, CM. 2010. Matrix metalloproteinases: What do they not do? New substrates and biological roles identified by murine models and proteomics. *Biochim Biophys Acta*. 1803:39–54.
44. Kuzuya M and Iguchi A. 2003. Role of matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Journal of atherosclerosis and thrombosis*. 10:275-82.
45. Rutschow S, Li J, Schultheiss H-P, Pauschinger M. 2006. Myocardial proteases and matrix remodeling in inflammatory heart disease. *Cardiovasc Res*. 69:646-56.
46. Santeliz H, Romano L, Gonzalez A, Hernandez H. 2008. El sistema renina-angiotensina-aldosterona y su papel funcional más allá del control de la presión arterial. *Revista Mexicana de cardiología*. 19:1-21.
47. Flamant M, Placier S, Dubroca C, Esposito B, Lopes I, Chatziantoniou C, et al. 2007. Role of Matrix Metalloproteinases in Early Hypertensive Vascular Remodeling. *Hypertension*. 50:212-18.
48. Morrison CJ, Butler GS, Rodríguez D, Overall CM. 2009. Matrix metalloproteinase proteomics: substrates, targets, and therapy. *Current Opinion in Cell Biology*. 21:645–53.
49. Eberini I, Calabresi L, Wait R, Tedeschi G, Pirillo A, Puglisi L, et al. 2002. Macrophage metalloproteinases degrade high-density-lipoprotein-associated apolipoprotein A-I at both the N- and C-termini. *Biochem. J*. 362:627-34.
50. Wallace YS, McEniery CM, Dakham Z, Pusalkar P, Maki-Petaja K, Ashby MJ, et al. 2005. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP9), MMP2, and Serum Elastase Activity Are Associated With Systolic Hypertension and Arterial Stiffness *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25:372-78.
51. Bergt C, Oram JF, Heinecke JW. 2003. Oxidized HDL: The Paradoxical oxidation of Lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 23:1488-90. (49)
52. Sariahmetoglu M, Crawford BD, Leon H, Sawicka J, Li L, Ballermann BJ et al. 2007. Regulation of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) activity by phosphorylation. *FASEB J*. 21:2486–95.
53. Fernández CA, Moses MA. 2006. Modulation of angiogenesis by tissue inhibitor of metalloproteinase-4. *Biochem Biophys Res Comm*. 345:523–29.
54. Volcik KA, Campbell S, Chambless LE, Coresh J, Folsom AR, Mosley TH et al. 2010. MMP2 genetic variation is associated with measures of fibrous cap thickness: the Atherosclerosis Risk in Communities Carotid MRI Study. *Atherosclerosis* 210:188–93.
55. Overall CM and Butler GS. 2007. Protease Yoga: Extreme Flexibility of a Matrix Metalloproteinase. *Structure Previews*. 15:1159-61.
56. Ardans JA, Economou AP, Martinson Jr. JM, Zhou M, Wahl LM. 2002. Oxidized low-density and high-density lipoproteins regulate the production of matrix metalloproteinase-1 and -9 by activated monocytes. *J. Leukocyte Bio*. 71:1012-18.

57. Xiao-Ping X, Meisel SR, Ong JM, Kaul S, Cercek B, Rajavashisth TB, et al. 1999. Oxidized Low-Density Lipoprotein Regulates Matrix Metalloproteinase-9 and Its Tissue Inhibitor in Human Monocyte-Derived Macrophages. *Circulation*. 99:993-98.
58. Robbesyn F, Augé N, Cantero VC, Barbaras R, Negre-Salvayre A, Salvayre R. 2005. High-Density Lipoproteins Prevent the Oxidized Low-Density Lipoprotein-Induced Endothelial Growth Factor Receptor Activation and Subsequent Matrix Metalloproteinase-2 Upregulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25:1206-12.
59. Mood, Graybill, Boes. 1974. Introduction to theory of statistics. Editorial McGraw-Hill. 564pp.
60. Chobaniam AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL et al. The National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. 2003. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. The JNC 7 Report. *JAMA*. 289:2560-72.
61. Aranceta J, Foz M, Gil B, Jover E, Mantilla T, Millán J, et al. Obesidad y riesgo cardiovascular. Estudio DORICA. Editorial Médica Panamericana. México. 2004.
62. Friedewald WF, Levy RI, Fredrickson DS. 1977. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*; 8:499-502.
63. Gidez LI, Miller GJ, Burstein M, Slagle S, Eder HA. 1982. Separation and quantitation of human plasma high density lipoproteins by a simple precipitation procedure. *J Lipid Res*. 23:1206-23.
64. Berglund L, Oliver EH, Fontanez N, Holleran S, Matthews K, Roheim PS, et al. 1999. HDL-subpopulation patterns in response to reductions in dietary total and saturated fat intakes in healthy subjects. *Am J Clin Nutr*. 70:992-1000.
65. Mojica Sastoque, F. La prospectiva, técnicas para visulizar el futuro. Legis. Bogotá. 144 pag. 1991.
66. Chow CK, Jolly S, Rao-Melacini P, Fox KAA, Anand SS, Yusuf S. 2010. Association of diet, exercise, and smoking modification with risk of early cardiovascular events after acute coronary syndromes. *Circulation*. 121:750-58.
67. Bassuk SS, Manson JE. 2005. Epidemiological evidence for the role of physical activity in reducing risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease. *J Appl Physiol*. 99:1193-204.
68. Hamer M. 2006. The anti-hypertensive effects of exercise: integrating acute and chronic mechanisms. *Sports Med*. 36:109-16.
69. Rodríguez N, El ejercicio en el tratamiento de la hipertensión arterial sistémica. Capítulo 7. Actividad física y salud cardiovascular. En búsqueda de la relación dosis-respuesta. Capítulo 7. CIB. 141-160. Medellín – Colombia. 2010.

70. LeBlanc AG, Janssen I. 2010. Dose-response relationship between physical activity and dyslipidemia in youth. *Can J Cardiol*; 26:202-6. (66)
71. Jaramillo NI, Torres-Galvis Y, Echevarría E, Llamas A, Jiménez LP, Montoya, Pareja D. 2004. Estudio sobre factores de riesgo cardiovasculares en una población de influencia de la Clínica Las Américas. *Revista CES Medicina*. 18:9-18.
72. Pérez JA. Respuesta de los lípidos sanguíneos al ejercicio. *Actividad física y salud cardiovascular*. En búsqueda de la relación dosis-respuesta. Capítulo 9. CIB. 177-201. Medellín – Colombia. 2010.
73. Norata GD and Catapano AL. Molecular mechanisms responsible for the antiinflammatory and protective effect of HDL on the endothelium. 2005. *Vas Health Risk Manag*. 1:119–29.
74. Asztalos BF, Roheim PS, Milani RL, Lefevre M, Mc-Namara JR, Horvath KV, et al. 2000. Distribution of apoA-I containing HDL subpopulations in patients with coronary heart disease. *Arterioscler.Thromb.Vasc. Biol*. 20: 2670–6.
75. Asztalos BF, Batista M, Horvath KV, Cox CE, Dallal GE, Morse JS, et al. 2003. Change in HDL concentration predicts progression in coronary artery stenosis. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol*.23: 847–52.
76. Thuahnai ST, Lund-Katz S, Dhanasekaran P, De la Llera-Moya M, Connelly MA, Williams DL, et al. 2004. Scavenger receptor class B type I-mediated cholesteryl ester-selective uptake and efflux of unesterified cholesterol. Influence of high density lipoprotein size and structure. *J. Biol.Chem*; 279: 12448–55.
77. Leon AS, Rice T, Mandel S, Despres JP, Bergeron J, Gagnon J, et al. 2000. Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population. The heritage family study. *Metabolism*. 49:513-20. 65
78. Yasmin SW, McEniery CM, Wallace S, et al. 2005. MMP9, MMP2 and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 25:372.
79. Shiguemoto GE, Prestes J, Leite RD, Pereira GB, Pontes CL, D'Ávila FV, et al. 2012. Effects of resistance training on matrix metalloproteinase-2 activity and biomechanical and physical properties of bone in ovariectomized and intact rats. *Scand J Med Sci Sports*. 22:607-617.
80. Pasterkamp G, Schoneveld AH, Hijnen DJ, de Klein DPV, Teepen H, van der Wal AC and Borst C. 2000. Atherosclerotic arterial remodeling and the localization of macrophages and matrix metalloproteases 1, 2 and 9 in the human coronary artery. *Atherosclerosis*. 150:245-53.
81. Timmins JM, Lee JY, Boudyguina E, Kluckman KD, Brunham LR, Mulya A, et al. 2005. Targeted inactivation of hepatic Abca1 causes profound hypoalphalipoproteinemia and kidney hypercatabolism of apoA-I. *J. Clin. Invest*. 115:1333–42.
82. Curtiss LK, Valenta DT, Hime NJ, Rye KA. 2006. What is so special about apolipoprotein AI in reverse cholesterol transport? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 26:12–19.

83. Savel J, Lafitte M, Pucheu Y, Pradeau V, Tabarin A, Couffignal T. 2012. Very low levels of HDL cholesterol and atherosclerosis, a variable relationship – a review of LCAT deficiency. *Vasc Health Risk Manag.* 8:357–61.
84. Bellosta S, Gomaschib M, Canavesia M, Rossonia G, Monettia M, Franceschinib G, and Calabresi L. 2006. Inhibition of MMP-2 activation and release as a novel mechanism for HDL-induced cardioprotection. *FEBS Letters.* 580:5974–78.
85. Minnich A, Collet X, Roghani A, Cladaras C, Hamilton RL, Fielding CJ, and Zannis VI. 1992. Site-directed Mutagenesis and Structure-Function Analysis of the Human Apolipoprotein A-I. *J Biol chem.* 267: 16553-56.
86. Arbeláez LF, Bergmann U, Tuuttila A, Shanbhag VP, Stigbrand T. 1997. Interaction of matrix metalloproteinases-2 and -9 with pregnancy zone protein and alpha2-macroglobulin. *Arch Biochem Biophys.* 347:62-8.
87. Nieto OA, Jiménez JA, García DM, Giraldo AM, Landázuri P. 2012. Metaloproteinasas de la matriz extracelular y lipoproteínas de alta densidad en individuos jóvenes. *Rev. Invest. Univ. Quindío.* 23:8-16.

**ANEXOS**

1. Consentimiento informado.
2. Acta No. 20 de 2010 del Comité de Bioética de la Universidad del Quindío.
3. Instrumento de recolección de la información.
4. Programa de ejercicio físico.