



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

“ZARAGOZA”

Correlación de las metaloproteinasas 1, 7 y 9 y el volumen espiratorio forzado (VEF₁) en pacientes con Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) por humo de tabaco y de leña.

T E S I S

Qué para obtener el título de

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

EMMANUEL LÓPEZ MIRANDA

DIRECTOR DE TESIS

M en C. MARTHA MONTAÑO RAMÍREZ

ASESOR DE TESIS

DRA. RAQUEL RETANA UGALDE





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Croyez ceux qui cherchent la vérité, doutez de ceux qui la trouvent
“Cree a aquellos que buscan la verdad. Duda de los que la encuentran”
(André Gide)

"El futuro tiene muchos nombres. Para los débiles es lo inalcanzable. Para los temerosos, lo desconocido. Para los valientes es la oportunidad."
(Víctor Hugo)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al departamento de Investigación en Fibrosis Pulmonar, laboratorio de biología celular del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”, por todas las experiencias que me brindaron para superarme como profesionalista y más aún aprender de su calidez y sencillez, para ser un mejor ser humano. Gracias a todos mis compañeros de Laboratorio y en especial:

A la M. en C. Martha Montaña Ramírez por darme la oportunidad tan grande de formar parte de su proyecto y por la confianza que depositó en mí durante todo el tiempo que estuve colaborando en su departamento, por sus atenciones y su interés por hacerme sentir parte de esa pequeña familia del Laboratorio.

A la M. en C. Lilia Carina Becerril Berrocal por la instrucción en todas las técnicas que realicé, por su paciencia y sobre todo por ser una gran profesionalista que inspira a sus alumnos a hacer lo mejor posible las cosas.

Al Dr. Carlos Ramos Abraham por su continua asesoría en la realización de este trabajo, por sus recomendaciones y por el apoyo que se esforzó en brindarme.

A Paty Zurita un gran ser humano, que me demostró el valor de un trabajo bien hecho, a amar lo que haces y a sonreír a la vida todos los días.

También deseo expresar mi gratitud a todas las personas de FES Zaragoza que en distintas etapas de la carrera me hicieron partícipe de sus experiencias.

A la Dra. Raquel Retana Ugalde por su valiosa asesoría en este trabajo y en cada trámite que realicé, por esas charlas que tuvo conmigo en las que siempre termina uno sonriendo de oreja a oreja.

A la QFB Patricia Vidal Millán porque me enseñó que la escuela es una pequeña parte del camino de un profesionista y que afuera existe un mundo esperando a ser conquistado.

A Ricardo y Paola por ser mis verdaderos amigos, de quiénes aprendí y sigo aprendiendo tanto, siempre sufrimos y triunfamos juntos.

A Diana, por sus muy insistentes consejos, los cuales me llevaron al INER y a alcanzar este sueño de ser profesionista.

Por último agradezco a todas las personas que me apoyaron incondicionalmente:

A Lucy, mi mamá, quién siempre sabe guiarme hasta lograr todas mis metas y por su amor incondicional, y Jorge, mi papá, que es de esas personas que aunque ya se fueron de este mundo, siguen dando lecciones de vida, dónde quiera que me estés mirando, espero que te sientas orgulloso de mí.

A mis hermanos Lucy y Jorge, mi cuñada Luz y mis sobrinos Jorge y Danna por la motivación de ser siempre mejor cada día.

A Vladimir y Carlos, mis mejores amigos en la vida, gracias por escucharme siempre.

A Wendy y Mauro por hacer un hogar conmigo lejos de nuestras familias.

DEDICATORIAS

A mamá y papá, que fueron mis primeros y mis mejores maestros.

Tabla de contenido

1. RESUMEN.....	6
2. INTRODUCCIÓN.....	7
3. MARCO TEÓRICO.....	9
3.1 Estructura y función del aparato respiratorio.....	9
3.2 Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).....	20
3.3 Espirometría.....	26
3.3 Metaloproteinasas.....	32
3.4 Las MMPs y EPOC.....	36
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	39
5. HIPÓTESIS.....	40
6. OBJETIVOS.....	41
7. MATERIAL Y MÉTODO.....	42
8. RESULTADOS.....	48
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	54
10. CONCLUSIONES.....	57
11. PERSPECTIVAS.....	58
12. REFERENCIAS.....	59

1. RESUMEN

Antecedentes

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) se caracteriza por la obstrucción progresiva, crónica e irreversible del flujo aéreo, desarrollo de inflamación, remodelación y degradación pulmonar y daño en vías aéreas. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), en México aproximadamente la padecen 2 millones de personas, con 60 mil defunciones/año. El tabaquismo es la principal causa de EPOC y afecta igualmente hombres y mujeres, mientras que la segunda causa de EPOC es la exposición doméstica y laboral al humo de leña, la cual afecta primordialmente mujeres y niños. El incremento de la concentración plasmática de las Metaloproteinasas de matriz (MMPs) en EPOC asociada a humo de leña sugiere un fenómeno de inflamación similar al que se ha descrito en la patogénesis de la EPOC secundaria al tabaquismo.

Objetivo

Determinar las concentraciones plasmáticas de la MMP-1, MMP-7 y MMP-9, así como su correlación con el Volumen Espiratorio Forzado en el primer segundo (VEF₁) en pacientes con EPOC asociadas a la exposición al humo de leña comparativamente con pacientes con EPOC por humo de tabaco.

Método

El VEF₁ y los niveles plasmáticos de MMP-1, MMP-7 y MMP-9 fueron medidos en 3 grupos de 40 mujeres cada uno: mujeres con EPOC asociado a la exposición por humo de leña, fumadoras y mujeres sanas no fumadoras como controles.

Resultados

Los niveles plasmáticos de MMP-1, MMP-7 y MMP-9 fueron mayores en los pacientes con EPOC por humo de leña y tabaco comparativamente con los controles ($p < 0.01$).

Conclusiones

Se observó una correlación inversa entre las concentraciones plasmáticas de cada una de las MMPs respecto al decremento del VEF₁.

2. INTRODUCCIÓN

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) se caracteriza por la obstrucción progresiva, crónica e irreversible del flujo aéreo, concomitante al desarrollo de inflamación, remodelación y degradación del parénquima pulmonar y daño en vías aéreas, así como alteraciones cardiovasculares.

La EPOC incluye enfisema, bronquitis crónica, bronquiolitis e hipertensión pulmonar y sistémica. Según la Organización Mundial de la Salud es la enfermedad respiratoria con mayor morbi-mortalidad y la cuarta causa de mortalidad global (5%), la padecen 210 millones de personas a nivel mundial y en México aproximadamente 2 millones, con 60 mil defunciones/año. El tabaquismo es la principal causa de EPOC y afecta igualmente hombres y mujeres, mientras que la segunda causa de EPOC es la exposición doméstica y laboral al humo de leña, la cual afecta primordialmente mujeres y niños.

El estudio PLATINO (Proyecto Latinoamericano de Investigación en Obstrucción Pulmonar) estima una prevalencia de 7.8% de EPOC en México, mostrando mediante encuestas epidemiológicas de manera muy importante, que en más del 69% de los hogares en el medio rural se utiliza básicamente leña como energético para preparar alimentos y como calefactor. En este sentido 30% de los pacientes con EPOC que acuden a la consulta en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas (INERICV), lo adquirieron exposición doméstica al humo de leña, siendo el 88% de éstos casos mujeres, mostrando además una mortalidad del 80 % dentro de los 6 años siguientes al diagnóstico de EPOC.

El humo de tabaco induce inflamación, la cual activa a los macrófagos, neutrófilos y células epiteliales, quienes eventualmente, liberan metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs); enzimas que remodelan y degradan las matrices extracelulares de membranas basales y el parénquima pulmonar, favoreciendo la destrucción de los tabiques alveolares, hipersecreción de la mucosa bronquial y metaplasia epitelial, asociadas al decremento en los niveles de los inhibidores de proteinasas, tal como el inhibidor tisular de las MMPs tipo-1 (TIMP-1); asimismo el incremento sérico de la

proteína C reactiva, un biomarcador de inflamación con valor predictivo pronóstico en la EPOC, los cuales muestran una correlación inversa con el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF₁).

Un antecedente fundamental para este estudio consiste en el hecho de que en la EPOC por tabaquismo existe una correlación inversa entre los niveles séricos de las metaloproteinasas 1, 7 y 9 y el decremento progresivo de la VEF₁. Sin embargo, en el caso de la EPOC por humo de leña no se conoce si existe ésta asociación inversa; por lo que el objetivo de este estudio es determinar si en la EPOC asociada a la exposición doméstica del humo de leña ocurre también esta correlación entre las concentraciones plasmáticas de las MMPs 1, 7 y 9 con el VEF₁.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Estructura y función del aparato respiratorio

El término respiración se define como el intercambio de gases entre el medio ambiente externo y el medio interno. Sin embargo, bajo esta definición se incluyen el movimiento de aire desde el interior hacia el exterior de los pulmones y más importante, el intercambio gaseoso del alveolo pulmonar de y hacia la sangre; el transporte mediante la vía sanguínea a las células y su posterior difusión a través de membranas celulares (1-3).

El aparato respiratorio se divide en dos partes desde el punto de vista funcional (4).

- I. Sistema de conducción o vías aéreas.
 - a. Vía aérea superior o alta: nariz, faringe y laringe.
 - b. Vía aérea inferior o baja: Tráquea, bronquios y árbol bronquial intrapulmonar
- II. Sistema de intercambio o superficie alveolar

Vía aérea superior

La vía aérea superior tiene un volumen aproximado de 72 mL, volumen que se reduce hasta un 50% con los cambios de posición de la cabeza. (4)

- Faringe

Es un conducto complejo que conecta la cavidad nasal y la cavidad oral con el esófago y con la laringe, siendo una zona de paso mixto para el alimento y el aire respirado. Tiene un epitelio ciliado semejante a las vías digestivas con el que continúa (1-5).

- Laringe

Es un órgano tubular, constituido por varios cartílagos, comunica la faringe con la tráquea y se halla delante de ella. Tiene una región denominada glotis, formada por dos pares de cuerdas vocales, siendo los pliegues superiores las cuerdas vocales falsas y los pliegues inferiores las cuerdas vocales verdaderas que son responsables de la emisión de sonidos propios del habla al vibrar cuando entre ellas pasa el aire espirado. Tiene una mucosa con epitelio cilíndrico, ciliado, pseudoestratificado, separa la vía aérea superior de la inferior (1-5).

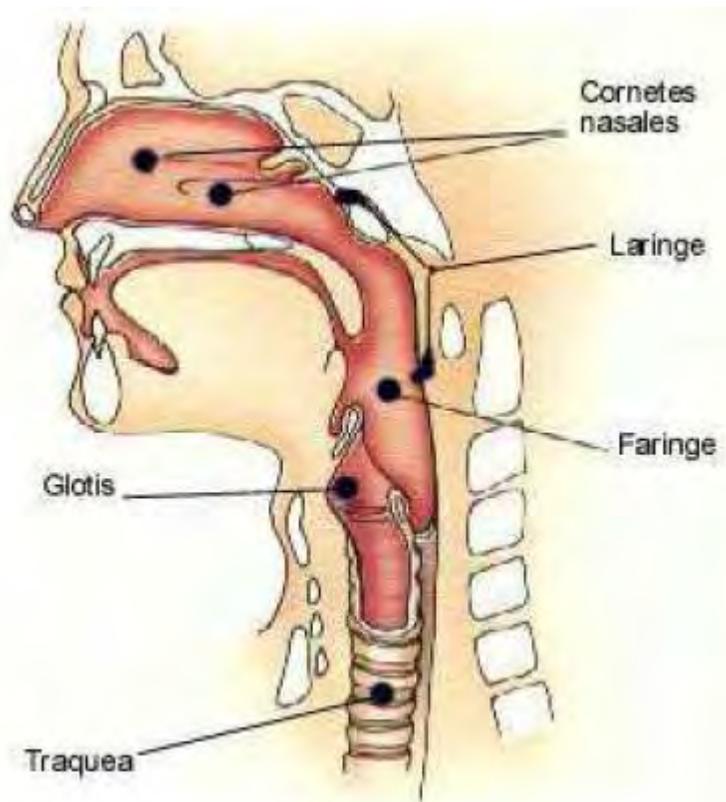


Figura 3.1 Vías aéreas superiores.

Tomado de: Collado R, 2004

Vía aérea inferior

- Tráquea

Conducto de unos 12 cm de longitud y de 2.5 a 3.5 cm de diámetro formado por anillos cartilagosos incompletos en su parte posterior (llamada pars membranosa); la falta de cartílago es para facilitar el paso del bolo alimenticio deglutido, conecta la laringe con los bronquios. Su mucosa tiene células pseudoestratificadas y ciliadas, que actúan en línea defensiva contra la entrada de partículas. La tráquea se divide en dos conductos o bronquios fuente, uno dirigido hacia el pulmón derecho y otro hacia el pulmón izquierdo (1-5).

- Bronquios fuente o primarios

En número de 2 (derecho e izquierdo), continúan con la tráquea, los anillos traqueales se transforman aquí en platos cartilagosos.

El bronquio principal derecho forma un ángulo con la vertical de unos 25°, mientras que el izquierdo, se angula unos 45°, siendo más largo que el bronquio fuente derecho porque tiene que superar el cayado aórtico antes de entrar al pulmón en el hilio. El ángulo de bifurcación en los niños, no tiene diferencias. (4,5)

Se componen de:

- La túnica interna o mucosa está constituida por un epitelio de células superficiales apoyadas en la membrana basal; el corion es rico en redes elásticas y está infiltrado de glóbulos blancos.
- Las glándulas (glándulas mucosas, arracimadas) tienen su alojamiento entre las capas fibrosas y musculares y se abren en la superficie de la mucosa bronquial.
- Una túnica externa o fibrocartilaginosa está formada de tejido conjuntivo, rico en fibras elásticas; contiene en su espesor elementos cartilagosos pequeños e irregulares. Está tapizada por dentro de una capa muscular (capa de músculos de Reissensen), de dirección generalmente circular y que cesa a nivel de los bronquios intrapulmonares. Dentro de cada pulmón, los bronquios primarios van

subdividiéndose en bronquios secundarios, terciarios y sucesivamente hasta llegar a las vías aéreas de menor calibre o bronquiolos terminales (4).

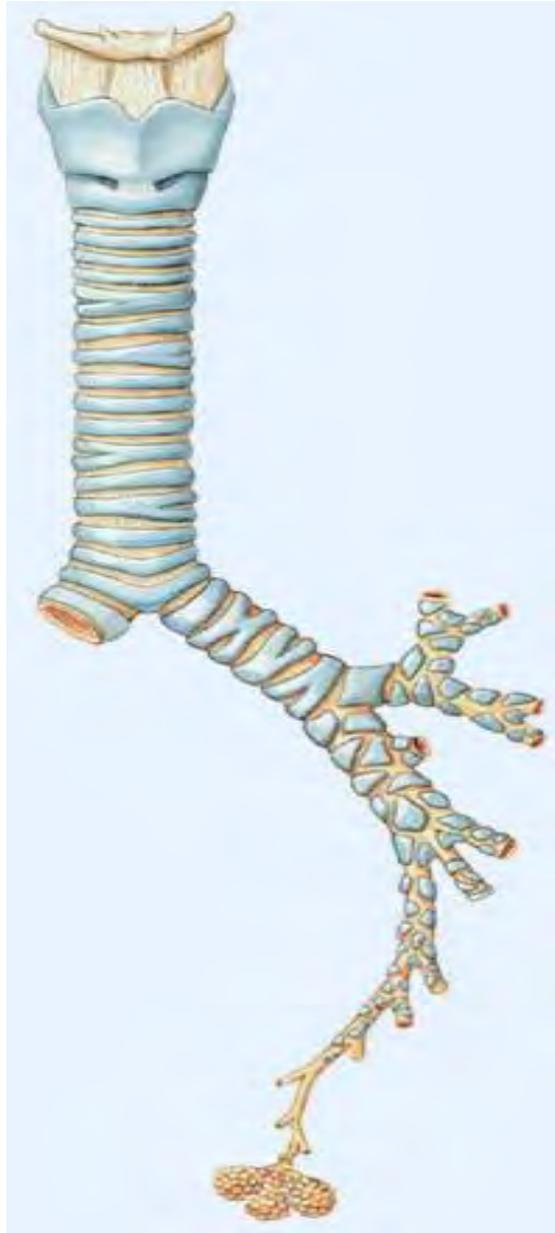


Figura 3.2 Subdivisión de los bronquios fuente o primarios.

Tomado de: Universidad de Cantabria, 2008

Pulmones

El pulmón es el órgano esencial del aparato respiratorio, se trata de dos masas esponjosas situadas en la caja torácica, separados entre sí por el conjunto de órganos que constituyen el mediastino. El pulmón derecho es mayor que el izquierdo y presenta tres lóbulos. El pulmón izquierdo es más pequeño debido al espacio ocupado por el corazón y solo tiene dos lóbulos (1-7).

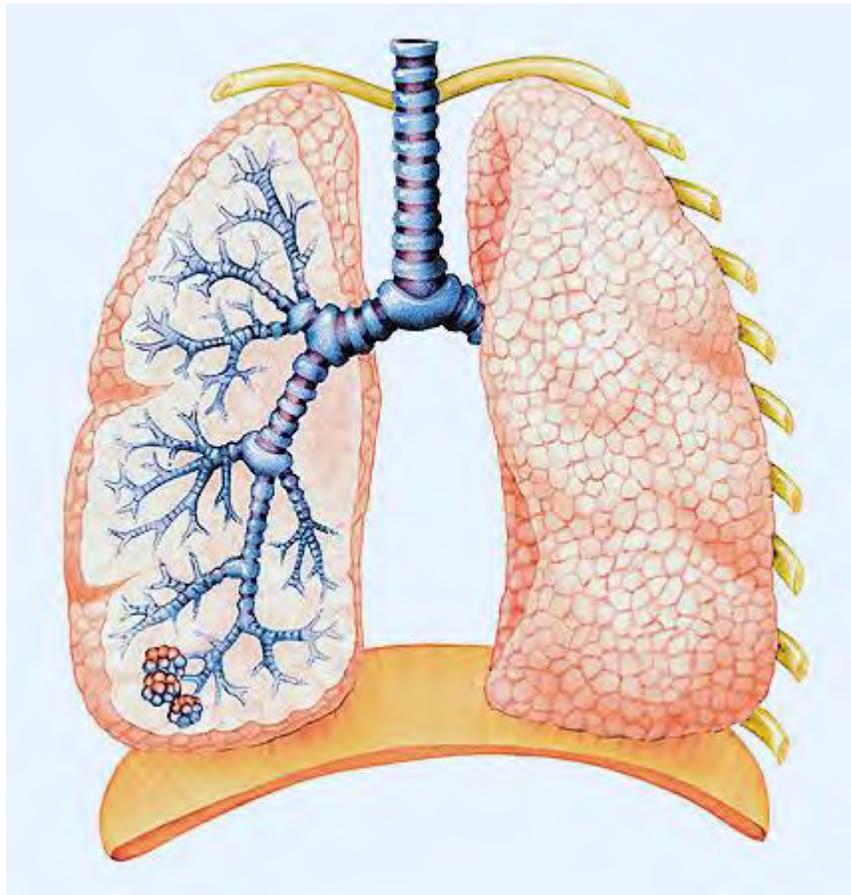


Figura 3.3 Pulmones

Tomado de: Collado R, 2004

El volumen varía según la edad y el sexo, y el pulmón derecho aventaja siempre al pulmón izquierdo en 1/5 o 1/6:

- 1600 cm³ en el hombre
- 1300 cm³ en la mujer

El peso de un pulmón en el adulto promedio es de 1100 a 1200 g (4)

Tiene consistencia blanda; cede a la menor presión con un ruido especial, llamado crepitación. Es muy elástico, distendido y recobra fácilmente sus dimensiones primitivas (4).

- Pleura

Es una membrana serosa que tapiza los pulmones doblada sobre sí misma. Dispone de dos hojas, la externa o parietal, adherida a la cara interna de la pared costal; y la interna o visceral, que se encuentra adherida firmemente a los pulmones. Entre ellas prácticamente no hay separación, tan sólo un poco de líquido que las mantiene aún más adheridas entre sí (5).

El espacio pleural (también denominado intra o interpleural) separa ambas pleuras unas 5-10µ y está relleno de unos 20 mL de líquido pleural, obtenidos por ultrafiltración del plasma, que se están renovando continuamente. Este espacio intrapleural es virtual, pero cuando entre las hojas aparece aire o líquido, se separan y puede apreciarse la existencia individualizada de cada hoja. (5, 7, 8)

Mantiene en contacto el pulmón con la pared torácica, de forma que sus movimientos vayan al unísono, y actúa como lubricante permitiendo que las hojas resbalen entre sí y no haya mucha fricción en un órgano en continuo movimiento. La presencia de esa pequeña cantidad de líquido favorece de forma extraordinaria la adherencia (5, 7, 8).

La presión en la cavidad pleural es negativa, y puede mantenerse gracias a los capilares linfáticos que drenan el líquido y generan con su aspiración una presión negativa.

La entrada de aire a la cavidad pleural elimina la presión negativa, provocando el colapso del pulmón y limitando de forma importante la respiración (5, 6).

Irrigación sanguínea pulmonar

El pulmón recibe un doble aporte sanguíneo:

Por un lado recibe sangre del circuito menor por las arterias pulmonares (con sangre venosa), que salen del ventrículo derecho.

Por otra parte recibe sangre del circuito mayor o sistémico mediante las arterias bronquiales (con sangre arterial) que nacen de la porción proximal de la aorta torácica o de las intercostales superiores (3).

Configuración interior pulmonar

- Lobulillos Pulmonares

A partir de los bronquios fuente (extrapulmonares) comienza el árbol bronquial intrapulmonar.

El pulmón está constituido por los lobulillos pulmonares que se continúan con los bronquios intrapulmonares y bronquiolos.

Son pequeños sacos membranosos, pegados entre si y unidos por escaso tejido conectivo. Tienen un volumen de un centímetro cúbico.

Son piramidales en la periferia, constituyendo campos poligonales visibles en la superficie exterior de los lóbulos, son más ovoides en el interior del órgano. Por una de sus extremidades se continúan con el bronquio supralobulillar. Jamás comunican entre sí; en un lobulillo examinado aisladamente se observa que el bronquio supralobulillar se continúa en el bronquio intralobulillar, emitiendo primero colaterales y bifurcándose después, dicotómicamente en cierto número (un promedio de 23) ramificaciones terminales, llamados bronquiolos acinosos cada uno de las cuales termina en un acino. (1-9)



Figura 3.4 Generaciones del árbol bronquial

Tomado de: Collado R, 2004

- Bronquios intrapulmonares (generación 1 a 3)

Cada bronquio intrapulmonar recorre el pulmón al cual está destinado, suministrando colaterales primarios injertados en ángulo. Estos bronquios intrapulmonares (generaciones 1, 2, 3) tienen cartílago en sus paredes, aunque de menor importancia que el de los bronquios fuente. (4)

En su extremidad distal, comienzan los bronquiolos.

- Bronquiolos (generaciones 4 a 15)

Se aceptan 23 generaciones en la ramificación bronquial y, aunque hay varias clasificaciones, se considera que el pulmón derecho tiene 10 segmentos y el izquierdo 8. La reducción del calibre de las ramas hijas se compensa al aumentar el número de ellas, con lo que la sección transversal se hace mayor y la velocidad del aire, tanto en reposo, como al esfuerzo, menor (4).

Por debajo de las generaciones 8 a 12, los bronquios pierden su cartílago, denominándose bronquiolos. A partir de aquí el aumento de sección es más evidente.

- Bronquiolo terminal (generación 16)

Es la porción más pequeña de la vía aérea, que no dispone de alvéolos. Hasta aquí se considera la zona conductiva.

El aire es conducido desde la atmósfera hasta esta región por transporte masivo o de convección, dado por las diferencias de presiones.

Las 16 primeras generaciones o zona no respiratoria del árbol bronquial constituyen el espacio muerto anatómico, con un volumen de 150 mL (aproximadamente 2.2 ml/kg) para una persona de 70 kg. (4, 8)

Vía aérea respiratoria

El acino pulmonar, dependiente del bronquiolo terminal (generación 16), posee tres generaciones de bronquiolos (generaciones 17, 18, 19), con algún alvéolo en sus paredes.

- Conductos alveolares (generación 20, 21, 22) y los sacos alveolares (generación 23).

Pertenecen a la zona distal al bronquiolo terminal; es la llamada zona respiratoria o de intercambio gaseoso y su volumen es de unos 2500-3000 ml. (5)

Cada acino, que tiene de 1 a 2 milímetros, presenta, después del estrechamiento del bronquiolo respiratorio (generaciones 17, 18, 19), una dilatación (vestíbulo), de la cual parten cuatro o cinco conductos alveolares (generaciones 20, 21, 22), que terminan en cavidades más vastas, laterales o terminales, con relación al eje del acino, los infundíbulos. (4, 8)

- Alvéolos

Tapizan tanto los conductos alveolares como los infundíbulos; son celdillas semejantes a las de un panal de abejas que, en número de 10 a 16, forman los sacos alveolares en la generación 23 (6, 9).

Existen aproximadamente 250 alvéolos por cada milímetro cúbico de pulmón, de lo cual resulta un número de alvéolos cercanos a los 300.000.000.

La superficie pulmonar, calculada de este modo viene a representar, por término medio, una superficie de 80 m² (4).

Cada alvéolo se compone de pared y epitelio. La pared delgada, transparente, está reforzada exteriormente por un sistema de fibras elásticas, cuya disposición es variable (6).

En los alvéolos, se puede reconocer:

- Capa formada por la película surfactante (secretada por los neumocitos II)
- Capa epitelial de tipo plano (apoyada sobre la membrana basal) que dispone de células escamosas o neumocitos tipo I en cantidad de un 93%, y neumocitos tipo II o granulados, estos cargados de surfactante, agente tensioactivo, formado por fosfolípidos que forma una película por todo el alvéolo y que disminuye la tensión de la superficie a medida que el volumen alveolar disminuye en la espiración, protegiendo así contra el colapso.
- Una capa de tejido conectivo (fibras reticulares y elásticas), al que se denomina intersticio alveolar y en el que se encuentran los capilares, formando un entramado que envuelve a los alvéolos.
- El endotelio capilar con su correspondiente membrana basal. Este endotelio es tan vasto que representa al 50% de todo el endotelio del organismo. (2-3, 7-8)

El intercambio de los gases se realiza a través del epitelio alveolar y el endotelio capilar.

En síntesis, un acino se compone de:

- Bronquiolos respiratorios (generaciones 17, 18, 19)
- Conductos alveolares (generaciones 20, 21, 22)

- Sacos alveolares (generación 23), compuestos de 10-16 alvéolos, en los cuales se realiza la transferencia de gases (9,10)

En esta zona es en donde está la mayor cantidad de volumen pulmonar, unos 2500 – 3000 mL. (4)

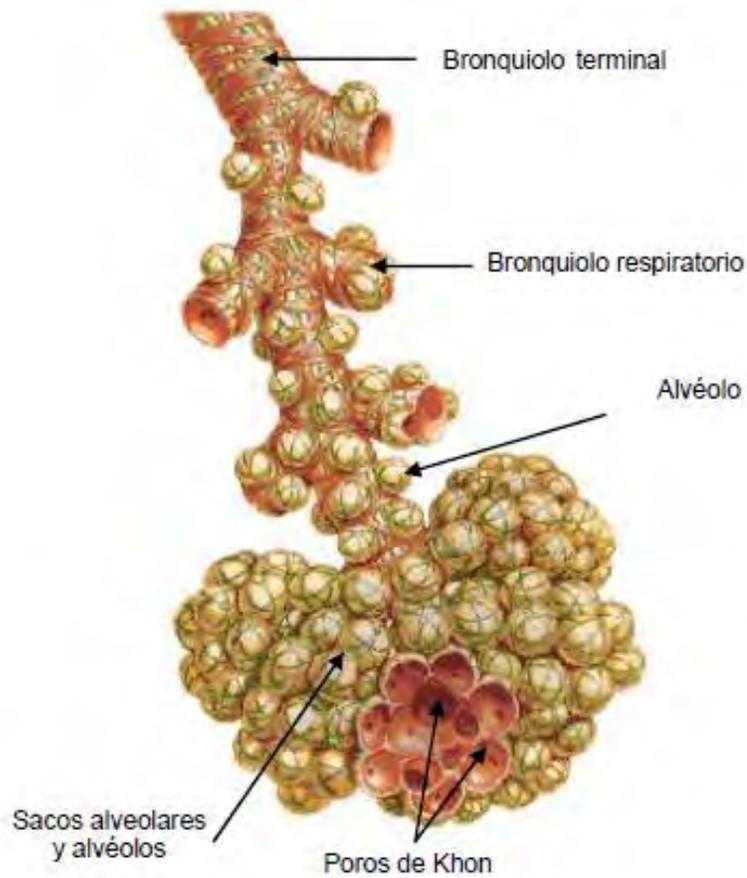


Figura 3.5 Acino pulmonar

Tomado de: Collado R, 2004

3.2 Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)

La EPOC es el término que describe fundamentalmente enfermedades pulmonares como el enfisema, la bronquitis crónica, alteraciones en las vías aéreas pequeñas o bronquiolitis, enfisema y asma, y que puede incluir un compromiso cardiovascular que cursa con hipertensión arterial. La EPOC presenta alta morbilidad y mortalidad, el principal factor patogénico de riesgo es la inhalación del humo de cigarro debido a la adicción al tabaco (tabaquismo), y como segunda causa la exposición al humo de leña (12-14).

La EPOC abarca un grupo de procesos que tienen en común un síntoma importante, la disnea, que se acompaña de obstrucción recidivante o crónica al paso del aire por los pulmones. Con el aumento de la contaminación atmosférica, del consumo de cigarrillos y de otras exposiciones nocivas como el humo de leña, la incidencia de la EPOC se ha elevado espectacularmente en los últimos decenios y ahora figura como una de las primeras causas de incapacidad que confinan al paciente en la cama o restringen su actividad. (12-15)

Las principales enfermedades pulmonares que caracterizan a la EPOC, (enfisema, bronquitis crónica y asma) se describen a continuación:

Enfisema

Es un proceso pulmonar caracterizado por el aumento permanente de los espacios aéreos distales al bronquio terminal, acompañado de destrucción de sus paredes, y sin signos de fibrosis, es posible que la patogénesis del enfisema sea la lisis excesiva de elastina y otras proteínas estructurales en la matriz pulmonar por la acción de la elastasa y otras proteasas derivadas de los neutrófilos, macrófagos y células mononucleares pulmonares, la atopia y la tendencia a producirse broncoconstricción en respuesta a estímulos (15).

Bronquitis crónica

La bronquitis crónica se caracteriza por secreción excesiva de moco bronquial y se manifiesta por tos productiva durante tres o más meses en dos años consecutivos, en ausencia de otra enfermedad que pueda explicar la sintomatología, el enfisema denota un crecimiento anormal permanente de los espacios de aire distales al bronquiolo terminal, con destrucción de sus paredes y sin fibrosis aparentes, vale la pena el tomar nota de que la bronquitis se define en términos clínicos, mientras que el enfisema se diagnostica en términos patológicos (15).

Asma

Es una enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias con obstrucción de éstas, conocida mejor como hiperreactividad de las vías aéreas, mostrando VEF1 de 70-80% (del predicho), caracterizándose por la presencia de síntomas intermitentes, tales como son sibilancias, pecho estrecho, disnea y tos junto con hiperrespuesta bronquial demostrable. La exposición a alérgenos definidos o a varios estímulos inespecíficos inicia una cascada de eventos de activación celular en las vías respiratorias, que originan procesos inflamatorios tanto agudos como crónicos, mediados por un conjunto complejo e integrado de la liberación local de citocinas y otros mediadores. La liberación de estos mediadores altera el tono del músculo liso de las vías respiratorias, así como su respuesta produce hipersecreción de moco y lesiona el epitelio de las vías respiratorias. Estos eventos alteran la arquitectura y función de las vías respiratorias de manera crónica, (15).

Patogenia de la EPOC

Clínicamente la EPOC se caracteriza por la limitación u obstrucción del flujo aéreo irreversible debido a inflamación de las vías aéreas, acompañado del deterioro progresivo en el estado general de la salud de los pacientes; dicha limitación al flujo aéreo es progresiva e irreversible, asociándose a una respuesta inflamatoria anormal seguida de la destrucción del parénquima pulmonar, vías aéreas pequeñas y arterias pulmonares (12, 13, 16).

La EPOC se asocia a la inhalación de diversas partículas nocivas contenidas en gases, vapores, polvos y humo del tabaco entre otros; siendo el humo del tabaco su principal agente etiológico (17). El desarrollo de la EPOC se asocia a cambios estructurales y celulares que afectan tanto a las vías aéreas centrales como a las periféricas. No obstante, el proceso inflamatorio se extiende también al parénquima y las arterias pulmonares (18).

Según las estadísticas epidemiológicas de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El factor de riesgo más importante para el desarrollo de EPOC es el tabaquismo, mientras que la segunda la exposición al humo de leña, principalmente en países en vías de desarrollo; dicha organización ha definido que alrededor del 45% de la población mundial utiliza fuentes energéticas como la leña y otras formas de biomasa sólida, para actividades relacionadas con la elaboración de alimentos y calefacción principalmente (17-18).

La exposición activa o pasiva al humo de tabaco ocasiona los siguientes cambios morfológicos en el pulmón: inflamación de las vías aéreas, fibrosis peribronquiolar, alteración de la estructura y función del epitelio alveolar, engrosamiento de la capa íntima vascular y destrucción de alvéolos (19).

Las alteraciones funcionales asociadas al tabaquismo incluyen la disminución de la limpieza mucociliar de las sustancias inhaladas, favorece la adherencia de microorganismos a la mucosa respiratoria y cambios en la permeabilidad alvéolo-capilar debido al aumento en el número y actividad de las células inflamatorias en el pulmón. Por otra parte se ha observado en algunos de los casos la presencia de fibrosis en la pared de las vías aéreas pequeñas en adición al cambio en el balance de las concentraciones de proteasas y antiproteasas (13).

Alteraciones estructurales del parénquima pulmonar en la EPOC

El enfisema pulmonar, definido como un agrandamiento anormal de los espacios aéreos distales de los bronquiolos terminales, causado por la destrucción de los tejidos que constituyen sus paredes, se presenta en la EPOC lo cual contribuye a la limitación al flujo aéreo, mediante la actuación conjunta de dos mecanismos: la reducción de la retracción elástica del pulmón, que afecta la capacidad para producir presiones generadoras de flujo, y la reducción de la carga que se opone al cierre de las vías respiratorias, que destruye los anclajes de las paredes alveolares (20); además, el músculo liso deteriorado, así como la presencia de inflamación y en ocasiones fibrosis contribuyen a la obstrucción ya que aumentan el grosor de la pared bronquiolar y desacoplan la vía respiratoria de la tracción elástica (20).

Obstrucción crónica del flujo aéreo

La limitación crónica al flujo aéreo característica en la EPOC está causada por una combinación entre enfermedad de la vía aérea pequeña consistente en bronquiolitis obstructiva y destrucción del parénquima pulmonar enfisema. La destrucción del parénquima pulmonar conlleva a la pérdida de alvéolos y la disminución en la capacidad contráctil del pulmón, con lo que se disminuye la capacidad de la vía aérea para mantenerse abierta durante la espiración (13, 16).

En el enfisema se degrada de manera exacerbada la matriz extracelular (ME), llevando al desarrollo de grandes espacio aéreos ubicados de manera distal a los bronquiolos terminales, con lo que el tejido alveolar es reemplazado por espacios aéreos que ya no participan en el intercambio gaseoso; este hecho constituye en sí la lesión enfisematosa. Por su parte la bronquitis crónica resulta de inflamación de las vías aéreas y acumulación de moco (13, 21).

La ME, antiguamente denominada tejido conectivo o conjuntivo, es una estructura compleja, constituida principalmente de una complicada malla de proteínas fibrosas,

proteínas y glicoproteínas no fibrosas, entre las que se incluye colágenas, fibras elastinas, fibronectina, proteoglicanos, glicosaminoglicanos y diversas glicoproteínas cuyo arreglo y concentración específica define la histoarquitectura en cada órgano (22).

La matriz extracelular pulmonar, así como la de otros órganos se compone de dos categorías estructural y molecularmente distintas pero complementarias entre sí. La primer de estas es la ME intersticial, la cual se constituye por ~75 % de colágenas, ~15 % de fibras elásticas, y el resto de diferentes proteínas y glicoproteínas, las cuales se encuentran embebidas dentro de una matriz viscoelástica compuesta de proteoglicanos y glicosaminoglicanos; éstos últimos son responsables de proporcionar una alta compresión hidrostática a los tejidos, debido a que en sus grupos sulfato se unen con átomos de sodio que son altamente higroscópicos y al hidratarse conservan parte del agua intersticial (22, 23).

La segunda forma de ME es la que constituye las membranas basales, I y se compone principalmente por colágenas tipos IV y V, laminina, fibronectina, diversas proteínas, proteoglicanos y glicosaminoglicanos. La función principal de la ME de las membranas basales es facilitar el intercambio de gases, polarizar al epitelio e interactuar fisiológicamente con las células endoteliales. (23)

La inflamación en la EPOC

La respuesta inflamatoria exagerada causada por inhalación de partículas y gases, mayoritariamente humo de tabaco, más allá de la respuesta inflamatoria normal de protección frente al humo de tabaco, es un hecho característico de la EPOC, que provoca una serie de lesiones pulmonares en fumadores susceptibles genéticamente. En pacientes con EPOC las células inflamatorias implicadas liberan mediadores proinflamatorios y enzimas remodelatorias de los tejidos, tal es el caso de las elastasas, diversas proteasas, IL-8, LT-B4, MMPs, factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α), que dañan la vía aérea y crean un microambiente proinflamatorio que aumenta la atracción de otras células quimiotácticamente hacia las mismas zonas inflamadas (12, 13, 24).

En pacientes con EPOC, el número de macrófagos en lavado bronquioalveolar (LBA) se encuentra elevado, como consecuencia de alto reclutamiento de estas células hacia las vías respiratorias. Así como un sistema de limpieza de macrófagos defectuoso, debido a la disfunción ciliar que el tabaquismo provoca. Esta acumulación de macrófagos se relaciona con la gravedad y la progresión de la enfermedad lo que indica un papel importante de estas células en la patogenia de la EPOC. Entre los productos liberados por los macrófagos se encuentran citocinas inflamatorias, activadores de las glándulas mucosas y MMPs (16, 23,25).

3.3 Espirometría

La Espirometría es una prueba que estudia el funcionamiento pulmonar analizando, en circunstancias controladas, la magnitud absoluta de los volúmenes pulmonares y la rapidez con que el paciente es capaz de movilizarlos. Es de principal utilidad en el diagnóstico de EPOC. (26)

Espirometría simple

Consiste en solicitar al paciente que, tras una inspiración máxima, expulse todo el aire durante el tiempo que necesite. (26, 27)

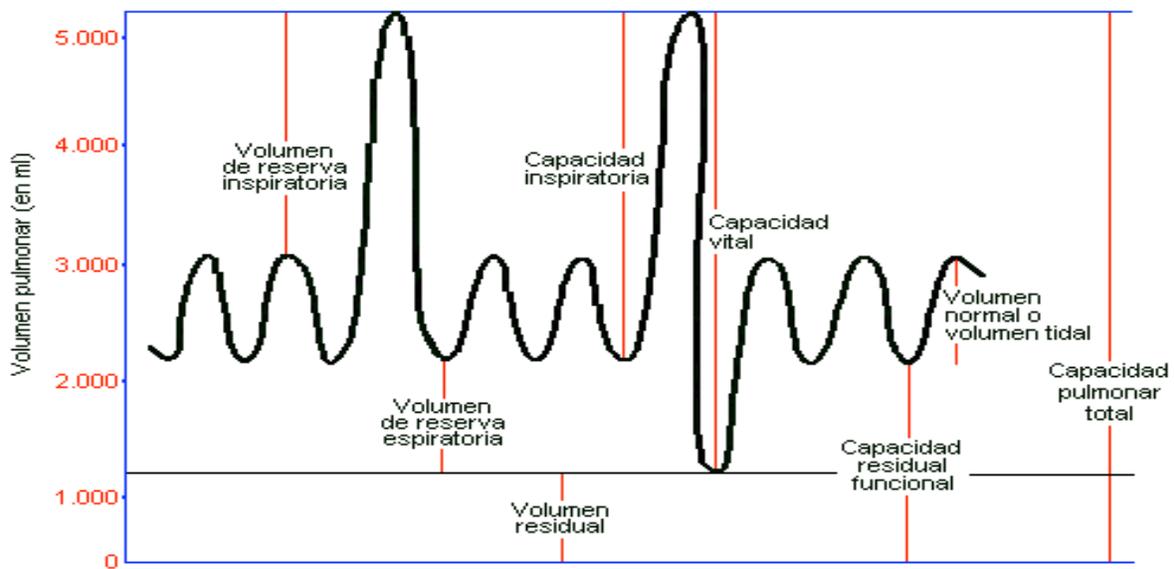


Figura 3.6 Espirometría simple

Tomado de: Gutiérrez M, Beroiza T, Borzone G, 2007

En el interior de la caja torácica, la presión negativa pleural evita el colapso del pulmón, produciéndose entre éste y el tórax una situación de equilibrio que se denomina volumen de reposo pulmón – tórax, en la cual el pulmón está distendido y se adapta al interior de la caja torácica. En esta situación podemos medir y conocer los volúmenes movilizables y no movilizables que intervienen en la dinámica pulmonar (26).

En condiciones normales, el volumen de aire que se mueve en cada respiración es de aproximadamente 500 mL en el adulto; este volumen se denomina volumen normal, volumen corriente o volumen tidal (26).

Pero nuestro pulmón es capaz de introducir más aire con la inspiración profunda: es el volumen de reserva inspiratorio. De la misma forma, puede expulsar más aire al hacer una espiración máxima: se trata del volumen de reserva espiratorio (26).

La suma de estos tres volúmenes (volumen corriente, volumen de reserva inspiratorio y volumen de reserva espiratorio) recibe el nombre de Capacidad Vital (CV), que es el volumen total de aire que puede movilizar una persona. Este volumen dependerá en cada individuo, principalmente, de su edad, talla y sexo. Si existe un proceso patológico que provoque una disminución de la capacidad vital (es decir, del aire movilizable), decimos que existe una restricción (26).

Pero en el pulmón y en las vías aéreas queda además una cierta cantidad de aire no movilizable: es el llamado volumen residual, cuya determinación precisa de técnicas de laboratorio de función pulmonar, como la pletismografía corporal.

La suma de la capacidad vital y el volumen residual es la cantidad total de aire que pueden contener los pulmones y se denomina Capacidad Pulmonar Total (CPT)

Espirometría forzada

Es la maniobra que registra el máximo volumen de aire que puede mover un sujeto desde una inspiración máxima hasta una exhalación completa (hasta que en los pulmones quede solo el volumen residual)

Tras una inspiración máxima, se le pide al paciente que realice una espiración de todo el aire en el menor tiempo posible. Es más útil que una Espirometría simple ya que permite establecer diagnósticos. Se puede presentar como: curvas volumen-tiempo (figura 7) o como curvas flujo-volumen (figura 8) (26).

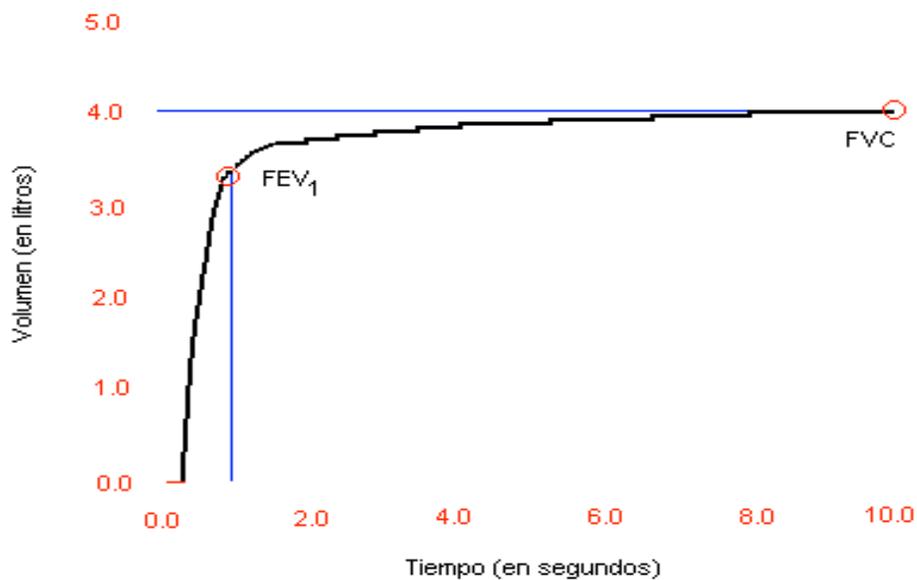


Figura 3.7 Curva volumen-tiempo

Tomado de: Gutiérrez M, Beroiza T, Borzone G, 2007

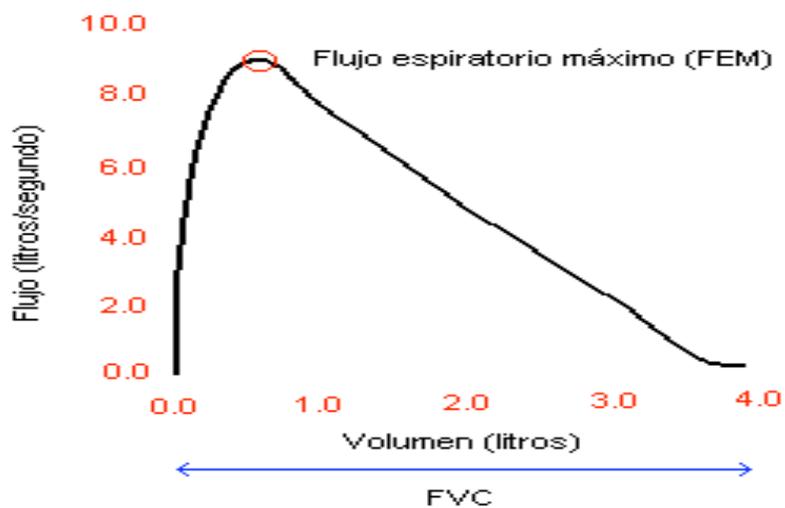


Figura 3.8 Curva flujo-volumen

Tomado de: Gutiérrez M, Beroiza T, Borzone G, 2007

Capacidad Vital Forzada (CVF)

Es considerado el volumen máximo de aire exhalado con un máximo esfuerzo y siempre desde una espiración máxima, que está expresado en litros. Su reproducibilidad es excelente y es por ello que es de uso rutinario en el diagnóstico (26-28).

Volumen Espiratorio Forzado en el primer segundo (VEF₁)

Este término se refiere al máximo volumen de aire expulsado pero en un tiempo especificado de 1 segundo y deberá ser en el primer segundo de la espiración; se realiza durante una maniobra de CVF y normalmente corresponde al 70% de éste. (26-28).

Relación VEF₁/CVF

Representa un porcentaje que expresa la relación entre el volumen espiratorio forzado que se expulsa en el primer segundo de la espiración y su relación con la capacidad vital forzada, permite detectar la existencia o no de enfermedad obstructiva (28).

De acuerdo con el Panel Mundial de Expertos (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: GOLD), el VEF₁ en combinación con la Capacidad Vital Forzada (CVF), permite caracterizar la progresión patogénica de la EPOC. Esto es mediante una clasificación que consta de 4 estadios, basado en la valoración del grado de obstrucción al flujo aéreo, considerando un valor de FEV₁/CVF <70%, así como el % de VEF₁ predicho en cada estadio (30); estos estadios se indican en el cuadro 1.

Cuadro 3.1 Clasificación espirométrica de la progresión patogénica de la EPOC (VEF₁ post broncodilatador; % del predicho) de acuerdo al Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (13,16-17, 29-30).

ESTADIO	SÍNTOMAS
Estadio I. Leve	VEF ₁ /CVF < 70%; VEF ₁ > 80% predicho, con o sin síntomas crónicos
Estadio II. Moderado	VEF ₁ /CVF < 70%; 50% < VEF ₁ < 80% predicho, con o sin síntomas crónicos como tos, expectoración, disnea.
Estadio III. Grave	VEF ₁ /CVF < 70%; 30% < VEF ₁ < 50% predicho, con o sin síntomas crónicos
Estadio IV. Muy Grave	VEF ₁ /CVF < 70%; 30% < VEF ₁ < 50% más insuficiencia respiratoria (PaO ₂ <60mmHg)

Gasometría

El término gasometría significa medición de gases en un fluido cualquiera, pero donde mayor rentabilidad diagnóstica tiene es en la sangre, pudiéndose realizar en sangre venosa periférica, sangre venosa central y sangre arterial (1-2).

Sirve para evaluar el estado del equilibrio ácido-base y para conocer la situación de la función respiratoria (sangre arterial). Para la valoración de la función respiratoria los cuatro parámetros fundamentales en sangre arterial son los siguientes (1-2):

- pH: mide la resultante global de la situación del equilibrio ácido-base. En sí mismo, no es un parámetro de valoración de la función respiratoria. Nos habla de si un proceso respiratorio es agudo o crónico, o de cuando un proceso crónico se agudiza.

- PaCO₂: mide la presión parcial de dióxido de carbono en sangre arterial. Se trata de un parámetro de gran importancia diagnóstica, pues tiene estrecha relación con una parte de la respiración: la ventilación (relación directa con la eliminación de CO₂). Así, cuando existe una PaCO₂ baja significa que existe una hiperventilación, y al contrario, cuando existe una PaCO₂ elevada significa una hipoventilación.
- PaO₂: mide la presión parcial de oxígeno en sangre arterial. Evalúa la otra parte de la respiración: la oxigenación (captación de oxígeno del aire atmosférico). Una PaO₂ baja significa que existe hipoxemia y una PaO₂ elevada, una hiperoxia.
- HCO₃⁻: y mide la situación del componente básico del equilibrio ácido-base. Tampoco mide ningún aspecto de la función respiratoria, sino que nos habla de si un proceso es agudo o crónico.

Espirometría y gasometría arterial

Para complementar la espirometría es necesaria la valoración del grado de oxigenación en fase estable de la EPOC. Habitualmente esta evaluación se hace mediante la gasometría arterial, con la valoración del VEF₁ en la espirometría. Cuanto mayor es el grado de obstrucción bronquial, mayor es la probabilidad de presentar insuficiencia respiratoria. (28)

La reciente normativa elaborada por la American Thoracic Society (ATS) y la European Respiratory Society (ERS) aconsejan realizar una gasometría arterial en la enfermedad moderada-grave, es decir, cuando el VEF₁ es menor del 50%. (30)

3.3 Metaloproteinasas

La matriz extracelular (ME) está formada por gran cantidad de componentes que se clasifican en tres grandes grupos: proteoglicanos y glucosaminoglicanos, proteínas estructurales (colágeno y elastina), y proteínas de adhesión (fibronectina y laminina). Tal variedad de componentes se encuentran interconectados y requiere una familia de proteasas denominadas metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP), cuya misión es degradar las proteínas integrantes de dicha matriz en su medio ambiente inmediato y activar factores de crecimiento, receptores de superficie y moléculas de adhesión (31).

Las metaloproteinasas (MMPs) son una familia de 25 enzimas proteolíticas en el humano, que se clasifican en cinco subfamilias: colagenasas, gelatinasas, estromelisin, metaloproteasas de membrana (MT-MMP) y otras MMP. Todas ellas difieren en su estructura y especificidad de sustrato, pero su acción combinada es capaz de conducir a la degradación de la totalidad de los componentes macromoleculares de la matriz extracelular (ME) (31-36).

Son dependientes de zinc y calcio para su actividad catalítica, se derivan entre otras células de los macrófagos, neutrófilos y fibroblastos, son proteasas extracelulares requeridas en numerosos procesos relacionados con el desarrollo, la regeneración y la enfermedad. Pueden degradar a los diversos constituyentes de las matrices extracelulares intersticiales y de membranas basales (23, 32-33).

El enfisema surge como consecuencia de la degradación exacerbada de las matrices extracelulares en pulmón y vías aéreas, principalmente por enzimas como las elastasas de neutrófilos y macrófagos, proteasa-3, catepsinas y diversas MMPs, las cuales son capaces de producir enfisema en modelos animales transgénicos y no transgénicos. Por otra parte la elastasa de los neutrófilos es inhibida por la alfa-1-antitripsina, lo cual explica el desarrollo de enfisema en los pacientes con deficiencia genética de esta enzima (23, 34).

La participación de las MMPs en la etiopatogenia del enfisema pulmonar ha sido confirmada categóricamente; los pacientes con enfisema presentan una mayor concentración de MMPs en el lavado broncoalveolar y una mayor expresión en macrófagos alveolares de enzimas como la MMP-1 (colagenasa intersticial-1) y la MMP-9 (gelatinasa B). Normalmente todas estas enzimas elastolíticas están inhibidas por antiproteasas como los TIMPs, asimismo se conoce que el epitelio pulmonar es otra fuente importante de MMPs (34, 35).

Clasificación de las MMPs

Primordialmente se clasificaron en función de la especificidad del sustrato (colagenasas, gelatinasas, estromelisinias y matrilisinias), pero actualmente se hace en función de su estructura.

La estructura básica de las MMP presenta una serie de dominios: un péptido señal, un propéptido y un dominio catalítico carboxiterminal que es un zinc. Sobre esta estructura básica aparecen diversas variantes: un dominio tipo hemopexina que media la especificidad del sustrato y las interacciones con inhibidores endógenos, o un dominio transmembrana en el caso de las MMP asociadas a la membrana plasmática (MT-MMP: membrane type MMP). Así, en la clasificación se distinguen ocho grupos estructurales: cinco de MMP y tres de MT-MMP. Las MT-MMP se unen covalentemente a la membrana celular, y las MMP secretadas pueden localizarse en la membrana celular uniéndose a las integrinas, a CD44, o mediante interacciones con proteoglicanos heparán sulfato y colágeno tipo IV, asociados a la superficie celular (31).

De los 25 homólogos de las MMP identificadas 22 de ellos corresponden a humanos. Cada MMP posee una secuencia señalizadora N-terminal o predominio, un propéptido o prodominio que mantiene la enzima latente hasta que se elimina por proteólisis, y un dominio catalítico que contiene la región conservada de unión al zinc. El dominio catalítico indica la especificidad del sitio de rotura mediante huecos que se unen a residuos de aminoácidos adyacentes. Con excepción de la MMP-7, MMP-6 y MMP-23, las restantes

MMPs poseen un dominio hemopexina conectado con el dominio catalítico por una bisagra o región de unión H (31).

Por último las MMP tipo membrana (MT-MMP), tienen un dominio transmembrana sencillo, un corto dominio C-terminal citoplasmático y una región C-terminal hidrofóbica glicofosfatidilinositol (GPI) que actúa como señal de anclaje a la membrana (31).

Cuadro 3.2 Metaloproteinasas de vertebrados (31)

MMP	Nombre común	Dominio
MMP-1	Colagenasa-1	B
MMP-2	Gelatinasa A	C
MMP-3	Estromelisina-1	B
MMP-7	Matrilisina	A
MMP-8	Colagenasa-2	B
MMP-9	Gelatinasa B	C
MMP-10	Estromelisina-2	B
MMP-11	Estromelisina-3	D
MMP-12	Macrófago metaloelastasa	B
MMP-13	Colagenasa-3	B
MMP-14	MT1-MMP	E
MMP-15	MT2-MMP	E
MMP-16	MT3-MMP	E
MMP-17	MT4-MMP	F
MMP-18	Colagenasa-4 (Xenopus)	B
MMP-19	RASI-1	B
MMP-20	Enamelisina	B
MMP-21	SMMP (Xenopus)	G
MMP-22	CMMP (pollo)	B
MMP-23		H
MMP-24	MT5-MMP	E
MMP-25	MT6-MMP	F
MMP-26	Endometasa Matrilisina-2	A
MMP-27		B
MMP-28	Epilisina	D

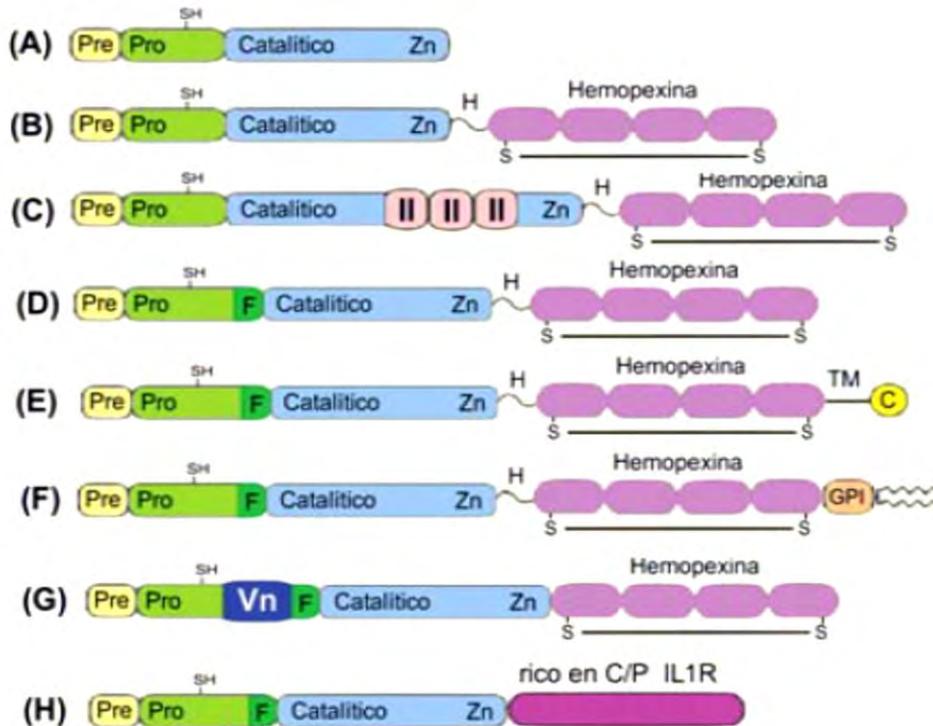


Figura 3.9 Estructura de las MMP. (A) Dominios mínimos de las MMP. (B) MMP que contienen sólo un dominio hemopexina. (C) MMP que se une a la gelatina. (D) MMP secretadas activadas por furina. (E) MMP transmembrana. (F) MMP ligadas a GPI (G) MMP con un dominio inserto similar a la vitronectina. (H) MMP con dominio rico en cisteína/prolina receptor de IL-1. (Tomado de; Cascales M, Álvarez J, 2010)

3.4 Las MMPs y EPOC

Existe una evidencia creciente de un rol de las MMPs en el EPOC. En pacientes con enfisema existe un incremento de la expresión de MMP-1 y MMP-9 por parte de los macrófagos, así como un incremento de la actividad de MMP-9 en el parénquima pulmonar de estos pacientes. La expresión de MMP-1 también se incrementa en los pulmones de pacientes con enfisema, con una predominante localización en neumocitos de tipo II.

Los macrófagos alveolares de fumadores expresan mayor MMP-9 que los sujetos normales y existe un incremento más significativo en células de pacientes con EPOC que presentan una gran actividad elastolítica. (37-38)

La MMP-9 que es producida por los neutrófilos, se acumula preferentemente en la luz de las vías respiratorias más que en el tejido parenquimatoso, has sido estudiada en pacientes con EPOC y se expresa en células endoteliales y macrófagos. Bajo condiciones patológicas se modifica la expresión y actividad de MMPs conduciendo como parte del proceso inflamatorio, la remodelación de las matrices extracelulares y finalmente la destrucción de los tabiques alveolares observada en el enfisema (22, 32, 34, 37).

Cuando se liberan en el medio ambiente extracelular o bien cuando están unidas a la membrana y en contacto con la zona pericelular, estas enzimas degradan una amplia gama de proteínas de la matriz extracelular, siendo importantes durante el desarrollo del tejido sano, así como en la remodelación del tejido dañado (22, 32, 34, 37).

Las MMPs adicionalmente pueden modular la actividad de citocinas, por ejemplo la activación proteolítica del factor de crecimiento transformante beta-1 (TGF- β 1), la unión a la membrana del factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) y la inactivación de degradación de la interleucina-1 beta (IL-1 β) (23).

La síntesis y la secreción de MMPs por los macrófagos son reguladas en respuesta al medio ambiente, según la presencia de citosinas, endotoxinas, factores de crecimiento y la actividad fagocítica. En los macrófagos de pacientes con EPOC hay elevados valores de MMP 1, 2, 9. El conocimiento sobre la biología de los macrófagos y los neutrófilos, y la capacidad para segregar varias enzimas con potencial para digerir componentes intersticiales del parénquima pulmonar, ha fortalecido una teoría clásica sobre la patogenia de la EPOC nacida del hallazgo de la asociación entre el déficit genético 1-antitripsina (1-AT) y el desarrollo de enfisema pulmonar (23, 32, 34).

Teoría del desequilibrio proteasas-antiproteasas en la EPOC

La explicación prevaeciente para explicar la remodelación y en su caso eliminación de tabiques alveolares en el enfisema, se ha propuesta como la teoría del desequilibrio proteasas-antiproteasas, según la cual el enfisema pulmonar es el resultado de la degradación excesiva de los diversos componentes de la matriz extracelular, debido a la sobreexpresión de las enzimas proteolíticas, y/o el decremento en la expresión de sus inhibidores específicos. En algunos casos como ocurre por el déficit de antiproteasas en condiciones homocigotas recesivas como la asociada a la deficiencia genética de 1-AT, por liberación excesiva de proteasas, por células inflamatorias o bien por una combinación de ambos. (24-39)

Se ha demostrado que el enfisema experimental inducido por humo de leña se acompaña por incremento de al menos MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, y MMP-12, pero recientemente se evidenció la participación de otras MMPs, así como de la apoptosis en el enfisema experimental inducido por humo de leña (36).

Sin embargo, no se conoce una correlación de las MMPs con el VEF₁ en pacientes con EPOC por humo de leña, como en el caso del EPOC por humo de tabaco, por ello es importante comprobar o descartar dicha correlación para contribuir en el estudio de la patogenia de ésta enfermedad que se origina por la exposición al humo de leña, y que es el objetivo principal de este estudio.

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EPOC es la enfermedad respiratoria con mayor morbilidad y mortalidad, constituye la cuarta causa de muerte global y la padecen alrededor de 210 millones de personas en el mundo; en México 2 millones de personas y se ha señalado como causa de 60 mil defunciones al año. La exposición al humo de leña es la segunda causa de EPOC en países en desarrollo ya que aproximadamente el 49% de la población mundial utiliza leña para cocinar y como calefactor. En el INER el 30% de los pacientes con EPOC acude por exposición al humo de leña; 88% son mujeres y su mortalidad es del 80% dentro de los primeros 6 años siguientes al diagnóstico. Sin embargo al momento no se ha determinado una relación entre los niveles de MMPs y el VEF₁ en pacientes con EPOC secundario al humo de leña, por lo que se plantea la siguiente pregunta de investigación:

¿Existirá en la EPOC causada por humo de leña una correlación inversa entre las concentraciones séricas de las metaloproteinasas 1, 7 y 9 con el decremento progresivo de la VEF₁, tal como ocurre en la EPOC secundaria a la inhalación de humo de tabaco?

5. HIPÓTESIS

De acuerdo con los antecedentes teóricos que señalan que en la EPOC causada por tabaquismo existe una correlación inversa entre los niveles séricos de las metaloproteinasas 1, 7 y 9 y el decremento progresivo de la VEF₁, y considerando que en la EPOC por exposición al humo de leña se da un proceso patogénico parecido, se espera que en éste caso exista una correlación inversa similar a la demostrada en EPOC por humo de tabaco.

6. OBJETIVOS

Objetivo General

Analizar la correlación de las concentraciones séricas de MMP-1 (colagenasa intersticial 1), MMP-7 (Matrilisina), MMP-9 (gelatinasa-B) y el VEF₁ en pacientes con EPOC secundaria a la inhalación de humo de tabaco y humo de leña.

Objetivos Específicos

1. Obtener en los pacientes con EPOC por humo de cigarro el índice tabáquico, así como el número de cajetillas/años y la existencia de periodos de interrupción de la exposición.
2. Valorar en los pacientes con EPOC por humo de leña el índice de exposición al humo de leña en horas/año, además de la existencia de periodos de interrupción a la exposición.
3. Determinar la prueba de función pulmonar básica de espirometría pre y post-broncodilatadora para obtener FEV₁, CVF y la relación FEV₁/CVF en los diferentes grupos de estudio.
4. Valorar la concentración sérica de la colagenasa intersticial 1 (MMP-1), matrilisina (MMP-7) y gelatinasa B (MMP-9) en las poblaciones de estudio.

7. MATERIAL Y MÉTODO

Diseño Experimental

Tipo de Estudio.

Estudio de casos y controles de las concentraciones séricas de las metaloproteinasas 1, 7 y 9 en pacientes mujeres con EPOC causada por humo de tabaco, por humo de leña y en pacientes sanas no fumadoras.

Población de Estudio

120 mujeres: 40 mujeres diagnosticadas con EPOC por tabaquismo, 40 con EPOC por humo de leña, y 40 mujeres sanas (controles) que ingresen al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Ismael Cosío Villegas.

Criterio de inclusión de los pacientes con EPOC

Historia de exposición al humo de cigarro o exposición doméstica de humo de leña, con datos clínicos de enfisema o bronquitis crónica.

Criterio de exclusión de los grupos de pacientes con EPOC

El padecimiento de, además de enfisema y bronquitis crónica, otra patología respiratoria diferente al enfisema y bronquitis crónica (EPOC), así como cualquier otra patología no pulmonar.

Criterio de inclusión del grupo control

Los controles son mujeres sanas que no presentan historia de exposición al humo de cigarro o humo de leña, así como la ausencia de cualquier enfermedad.

Criterio de exclusión del grupo control

Haber fumado o expuesto al humo de leña, así como presentar alguna enfermedad respiratoria o no respiratoria.

Estudio clínico

1. Se obtuvo mediante entrevista médica el perfil clínico de los pacientes con EPOC y los controles sanos, mediante la historia clínica y colección de datos resultantes. Se obtuvo la edad y las características morfométricas de estatura y peso, así como el índice de masa corporal (IMC).
2. En los pacientes con EPOC se valoró mediante un cuestionario médico el índice tabáquico como el número de cajetillas/años, así como el índice de exposición al humo de leña en horas/año, además de la existencia de periodos de interrupción a la exposición.
3. Se definió la progresión patogénica de la EPOC (estados I a IV) en los pacientes con EPOC, especialmente bronquitis crónica y enfisema; esto se practicó en pacientes con historia de exposición doméstica al humo de leña, humo de cigarro por tabaquismo. Los controles son sujetos sanos que no presenten historia de exposición al humo de cigarro o humo de leña y no se les aplicó estas pruebas.
4. A cada paciente con EPOC o sujeto control se le practicaron las siguientes pruebas para diagnosticar la EPOC: Espirometría pre y post-broncodilatador, valorando el VEF_1 , el capacidad vital forzada (CVF), además de la relación VEF_1/CVF . Prueba caminata de 6 minutos con oximetría y una gasometría para evaluar la PaO_2 y $PaCO_2$
 - a. Espirometría pre y post broncodilatadora: Se realizó según los estándares internacionales y nacionales (13,14). El paciente concurrió en la mañana y se obtuvo su estatura y peso. Con el sujeto sentado y con clip nasal se realizaron tantas espirometrías como fuese necesario para lograr buena aceptabilidad y reproducibilidad de VEF_1 y CVF. Una vez logrado se efectuó nebulización con solución salina normal durante 2 minutos, y nuevamente se midió el VEF_1 ; a los 30 y 90 segundos de terminada la nebulización. La menor de las medidas post-salina fue el valor que se tomó como basal. A continuación se iniciaron nebulizaciones con dosis crecientes del agente broncodilatador, en este caso metacolina, en valores de concentración de 0.03, 0.06, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 16 y 32 mg/ml. Cada nebulización duró 2 minutos, y

una vez concluida se midió FEV₁ a los 30 y 90 segundos. El ciclo completo duró 5 minutos, de modo que se inició una nueva nebulización con la dosis siguiente cada 5 minutos. La prueba se detuvo cuando algún VEF₁ fuese \leq 80% del basal; entonces se administró salbutamol 200 mg vía MDI y se realizó espirometría post-broncodilatadora 15 minutos después. El espirómetro que se utilizó para la prueba se calibró antes de realizar cada prueba, y preferentemente permitió la observación en tiempo real de las curvas volumen/tiempo y flujo volumen, para asegurar la aceptabilidad de la maniobra realizada. El nebulizador se calibró para obtener una salida de 0.13 mL/min; se usó con máscara nasal o válvula bucal unidireccional, siempre nebulizando con clip nasal y usando O₂. La dosis del agente provocativo se duplicó en el transcurso de la prueba, en escala logarítmica. La curva dosis/respuesta medida en % de caída de VEF₁ vs. concentración del agente provocativo tiene perfil de hipérbola.

- b. Prueba caminata de 6 minutos: el paciente se mantuvo en reposo durante 10 minutos antes de comenzar la prueba, se le realizaron tomas de frecuencia cardiaca en reposo, al culminar la prueba y pasado el primer minuto de recuperación. Se le realizaron tomas de presión arterial en reposo, al culminar la prueba y pasado el primer minuto de recuperación. Al paciente se le explicó detalladamente la prueba antes de comenzarla, caminó al máximo de sus posibilidades durante 6 minutos y se midió la distancia recorrida en metros. La superficie de recorrido fue lisa, plana y estuvo marcada en metros.

Indicaciones metodológicas de la caminata

- La prueba se suspendió o no comenzó si el paciente siente malestar precordial.
- Con presión arterial igual o mayor a 160/100mmHg no se deberá realizar la prueba
- Se estimuló verbalmente al paciente durante la ejecución de la prueba
- Se realizó por la mañana o bien tarde cuando el sol no afecte.
- El paciente usó ropa y calzado cómodos.

Los recursos materiales usados fueron: Cronómetro, metrométo, esfigomanómetro y estetoscopio.

- c. Obtención de plasma: Para la obtención de sangre periférica se realizó una venopunción antecubital en tubos con heparina al vacío, centrifugándolos a 1200 xg a 4 °C, por 15 minutos. Se separó el plasma en microtubos de 1mL y se almacenaron a -70 °C hasta su análisis.

Estudio bioquímico

5. Se midieron las concentraciones en plasma de MMP-1, MMP-7, MMP-9, con ensayos de ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) en los 3 grupos de estudio, en ensayos realizados por triplicado de acuerdo al siguiente procedimiento:

Curva patrón: Se reconstituyó el estándar de cada MMP en agua desionizada, lo que produjo un stock de 100ng/mL que se incubó a temperatura ambiente por 15 minutos. Se pipetearon 360µL de diluyente de calibrador para el primer tubo de la curva (10ng/mL) y 200µL en los siguientes tubos (2, 2.5, 1.25, 0.625, 0.313 y 0.156ng/mL) y se utilizó la solución stock de 100ng/mL para producir una dilución en serie como lo indica la siguiente figura:

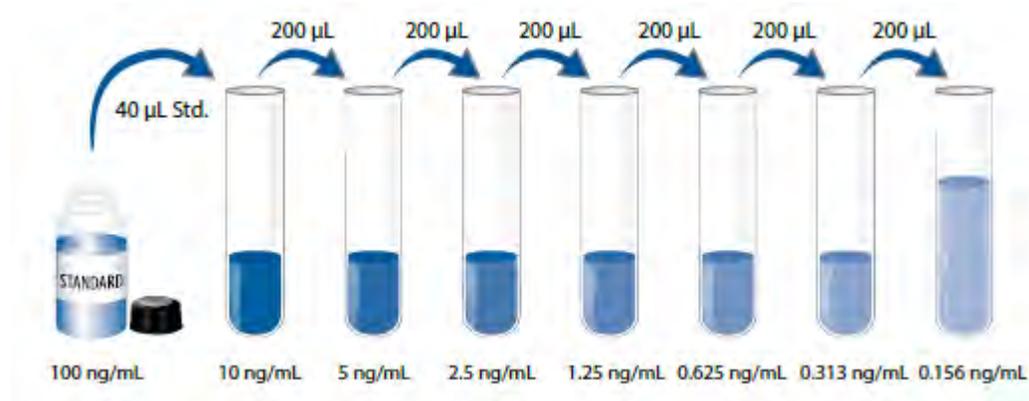


Figura 7.1 Diluciones en serie para la curva patrón. (Tomado de R&D Systems, 2013)

Procedimiento del ensayo:

- Se prepararon todos los reactivos, las soluciones estándar, y las muestras

- Se adicionaron 100µL de diluyente en cada pozo a utilizar.
- Se adicionaron 50 µL de estándar, control o muestra por pozo, se cubrió con una tira adhesiva y se incubó por 2 horas a temperatura ambiente en un agitador horizontal a 500rpm.
- Se decantó y enjuagó cada pozo 4 veces con 400 µL de búfer de lavado.
- Se adicionaron 200 µL de conjugado de cada MMP a cada pozo, se cubrió con una tira adhesiva y se incubó por 2 horas a temperatura ambiente con agitación a 500rpm.
- Se repitió el decantado y lavado.
- Se adicionaron 200µL de solución de sustrato a cada pozo, se incubó a temperatura ambiente sin agitación, protegiendo de la luz con papel aluminio.
- Se adicionaron 50 µL de solución stop para detener la reacción.
- Se determinó la densidad óptica para cada pozo pasados 30 minutos, usando un lector óptico calibrado a 450nm, con una corrección a 540nm

Los límites de detección fueron: 0.023ng/mL para MMP-1, 0.016ng/mL para MMP-7 y 0.036 ng/mL para MMP-9.

Análisis Estadístico

Los datos fueron expresados como la media \pm la Desviación Estándar (DE) por al menos tres experimentos independientes (se realizaron por triplicado). Se realizó un ANOVA (One way analysis of variance) seguido por un análisis por Tukey, para ajustar las múltiples comparaciones entre grupos. Las asociaciones entre las variables fueron analizadas usando el coeficiente de correlación de Pearson (r). El software IBM SPSS Statistics 20.0 (Chicago, IL) fue utilizado para el análisis estadístico; las comparaciones que mostraron una $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativas.

8. RESULTADOS

Características clínicas de los pacientes

En el cuadro 8.1 se muestran las características clínicas generales de cada grupo de estudio. Como se observa las mujeres con EPOC secundario a la exposición doméstica del humo de leña fueron de mayor edad que las mujeres control, mientras que su estatura y peso fueron significativamente menores respecto a los controles y las mujeres con EPOC por tabaquismo. No hubo diferencia significativa en el IMC en los tres grupos de estudio.

Cuadro 8.1 Características clínicas de las mujeres con EPOC y mujeres sanas no fumadoras (control)

Características de las Mujeres	Control (C) n=40	Humo de leña (HL) n=40	Tabaquismo (FT) n=40
Edad (años)	65 ± 10	72 ± 8*	69 ± 9
Estatura (cm)	158 ± 6	147 ± 7 [†]	159 ± 10
Peso (Kg)	65.9 ± 9	62 ± 11 [‡]	69 ± 9
IMC (Kg/m ²)	27 ± 8	29 ± 5	26 ± 3

Prueba ANOVA, Tukey como Post hoc. Significancia al 95%. Los datos son presentados como la media ± DE. IMC: Índice de masa corporal. *p=0.01 vs control [†]p=0.01 vs C y FT [‡]p=0.01 vs HL y FT

La exposición media al humo de leña fue de 230 ± 132 horas/año, mientras que las fumadoras tuvieron un consumo acumulativo de tabaco (índice tabáquico) medio de 50 ± 30 paquetes/año, donde un paquete/cajetilla por año se define como 20 cigarros fumados.

Análisis de la función pulmonar

El análisis de la dinámica de gases respiratorios mediante espirometría, mostró que el VEF₁ (% predicho), la CVF (%predicho) y la relación VEF₁/CVF fueron significativamente menores en ambos grupos con EPOC en comparación con los controles sanos, aunque no mostraron diferencia estadística entre sí, salvo en el VEF₁ que se encuentra disminuido en EPOC por Tabaquismo (Cuadro 8.2).

Cuadro 8.2 Resultados de la espirometría en mujeres con EPOC y mujeres sanas no fumadoras (control)

Resultados de la espirometría.	Control (C) n=40	Humo de leña (HL) n=40	Tabaquismo (FT) n=40
VEF ₁ (%p)	107.8 ± 8.7	62.1 ± 25.6 [†]	49.5 ± 23.9*
CVF (%p)	109 ± 9	78 ± 19*	82 ± 14*
VEF ₁ /CVF	91 ± 9.5	53 ± 16*	56 ± 15*

Prueba ANOVA, Tukey como Post hoc. Significancia al 95%. Los datos son presentados como la media ± DE. VEF₁: Volumen Espiratorio Forzado en el primer segundo; CVF: capacidad vital forzada; % predicho: porcentaje del valor que se predijo. *p<0.05 vs control [†]p<0.05 vs FT

Acerca de los diversos parámetros de la fisiología respiratoria evaluados, solamente el estudio gasométrico del % de Saturación de Oxígeno (SaO₂ %) fue significativamente menor en las mujeres con EPOC por humo de leña comparado contra las mujeres fumadoras (Cuadro 8.3). En los demás parámetros no hubo diferencias significativas.

Cuadro 8.3 Resultados del estudio oximétrico en mujeres con EPOC

Pruebas Oximétricas	Humo de leña (HL) n=40	Tabaquismo (FT) n=40
PaO ₂ (mmHg)	53 ± 7	59 ± 10
PaCO ₂ (mmHg)	34 ± 4	32 ± 5
6MWT (m)	274 ± 155	327 ± 142
SaO ₂ (%)	88 ± 5	91 ± 5*

Prueba T de Student. Significancia al 95%. Los datos son presentados como la media ± DE. VEF₁. PaO₂: Presión parcial de Oxígeno PaCO₂: Presión parcial de CO₂. 6MWT: Caminata de 6 minutos. SaO₂: Saturación de Oxígeno
*p<0.05

Es importante notar que las pacientes con EPOC por humo de leña difieren de las fumadoras en que la mayoría de estas últimas estaban en los grupos características de estadios II-IV del criterio del grupo GOLD, mientras que las mujeres con humo de leña en los estadios II y III (Cuadro 8.4).

Cuadro 8.4 Estadio GOLD de mujeres con EPOC

Estadio GOLD	Humo de leña (HL) n=40	Tabaquismo (FT) n=40
I	7 (20.59)	10 (20)
II	21 (61.76)	19 (38)
III	5 (17.71)	16 (32)
IV	1 (2.94)	5 (10)

Prueba X². Significancia al 95%.

Concentraciones plasmáticas de MMPs

Las concentraciones plasmáticas de las MMP-1, MMP-7 y MMP-9 se muestran en el cuadro 8.5, para todas se muestran un incremento significativo en ambos grupos de EPOC respecto a las del grupo control; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos con EPOC.

Cuadro 8.5. Concentración plasmática de MMPs.

MMP	Control	Humo de leña	Tabaquismo
MMP-1 (ng/mL)	1.62 ± 0.71	4.24 ± 2.17*	3.86 ± 2.71*
MMP-7 (ng/mL)	1.79 ± 0.26	2.63 ± 1.12*	2.87 ± 1.26*
MMP-9 (ng/mL)	4.46 ± 0.65	7.97 ± 3.53*	9.07 ± 2.84*

Prueba ANOVA , Tukey como Post Hoc. Significancia al 95%. Los resultados están expresados como media ± DE. *p=0.01 vs control.

Correlaciones de la concentración de MMP con el VEF₁

El análisis de la correlación entre la concentración de cada una de las concentraciones plasmáticas de las metaloproteinasas, mostró en una relación inversa entre la concentración de las metaloproteinasas contra el VEF₁ (%predicho), la cual puede observarse para MMP-1 y MMP-7 en la Figura 8.1 y para MMP-9 en la Figura 8.2.

Correlación de las metaloproteinasas 1, 7 y 9 y el volumen espiratorio forzado (VEF₁) en pacientes con Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) por humo de tabaco y de leña.

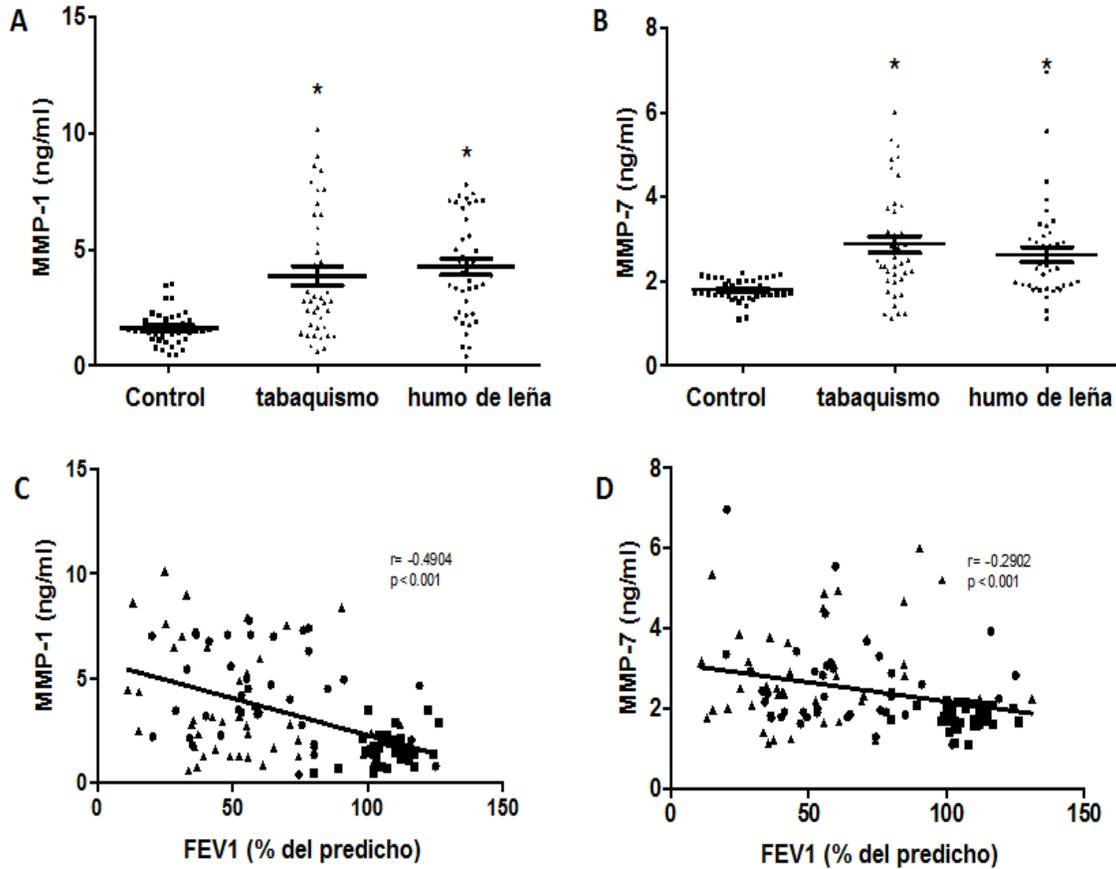


Figura 8.1 Niveles plasmáticos de MMP-1 y MMP-7 en los grupos con EPOC comparados con mujeres sanas no fumadoras (controles); y relación entre la MMP-1 y MMP-7 con el VEF₁ (%predicho). Existe diferencia significativa entre los grupos con EPOC tanto por exposición al humo de leña (HL) como en fumadoras (T) respecto al grupo control (C). No se encontró diferencia entre grupos con EPOC: (A) MMP-1 (B) MMP-1 entre MMP-1 o MMP-7 y VEF₁ (% predicho) en EPOC y mujeres sanas no fumadoras realizado con el coeficiente de correlación de Pearson (r). (C) MMP-1; $r = 0.4904$ y $p < 0.0001$. (D) MMP-7; $r = 0.2902$ y $p < 0.0013$. Los resultados son expresados como la media \pm DE; $p < 0.01$. Controles (■); tabaquismo (▲); humo de leña (●).

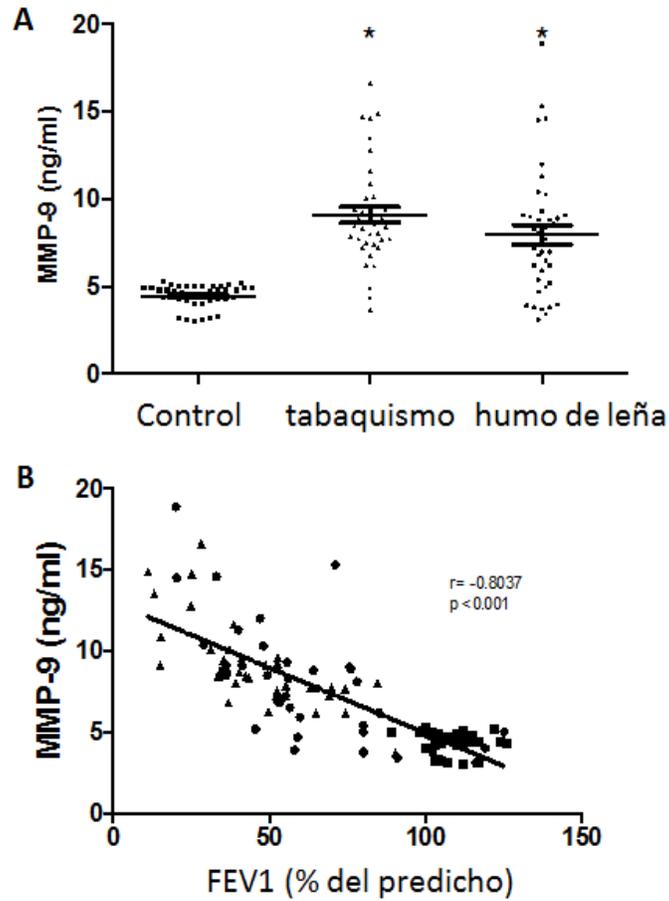


Figura 8.2 Niveles plasmáticos de MMP-9 en los grupos con EPOC comparados con mujeres sanas no fumadoras (controles). Existen diferencias significativas entre los grupos de humo de leña y tabaquismo, cuando se comparan con mujeres sanas no fumadoras como control. (A) MMP-9 (C) MMP-9; $r = 0.8037$ y $p < 0.0001$. Controles (■); tabaquismo (▲); humo de leña (●)

9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Diversos estudios realizados en diferentes poblaciones alrededor del mundo, han establecido que la exposición doméstica a los productos de la combustión de biomasa sólida, pero especialmente de leña, actúan como factores de riesgo para el desarrollo de EPOC, sobre todo en países en desarrollo (40). El perfil clínico de la EPOC asociada a la exposición doméstica al humo de leña, así como sus valores pronósticos se han descrito en la población mexicana (41-44). Las mujeres son más susceptibles que los hombres para desarrollar EPOC a causa del humo de leña, exhibiendo síntomas bronquiales, decremento en la capacidad al ejercicio, cambios en la calidad de vida, así como del suplemento de Oxígeno, y un incremento en el uso de servicios de salud (41, 42). A pesar de esto diversas cuestiones relacionadas con la exposición a humo de leña y otras formas de biomasa todavía permanecen sin explorar; una de estas cuestiones precisamente es la relación de las MMPs como parte de un estado sistémico de baja inflamación característico de la EPOC con la capacidad respiratoria, además de los mecanismos fisiopatogénicos, genéticos y los mecanismos moleculares asociados con los efectos del humo de leña (45, 46).

Se ha observado diversas similitudes incluyendo la mortalidad atribuida a la EPOC asociada con tabaquismo y exposición a humo de leña; del mismo modo, se desconoce si todas las moléculas involucradas en la patogénesis de EPOC asociada a la exposición al tabaco lo estén también en la EPOC por exposición a humo de leña (18, 41).

Nuestros resultados mostraron que las mujeres con EPOC por humo de leña son de mayor edad y de menor estatura que las fumadoras, lo cual ha sido reportado previamente (41), esto se ha explicado por razones socioeconómicas asociadas a la pobreza, la mala nutrición y al incremento de riesgos por el contacto con materiales propios del medio rural.

La diferencia en la saturación de Oxígeno (SO₂ %), la cual fue más baja en las mujeres con EPOC por humo de leña en relación a las pacientes fumadoras, se debe al porcentaje de carboxihemoglobina (Hb-CO), ya que se ha reportado que los valores de Hb-CO son

más altos en los pacientes con EPOC por humo de leña que por humo de cigarro (42, 43), lo cual coincide con nuestro resultado.

En casas con aplicaciones de gas, se han medido concentraciones de monóxido de carbono máximas de hasta 60-115 mg/m³ (52-100 ppm). El humo de tabaco ambiental en viviendas, oficinas, vehículos y restaurantes puede levantar la concentración de monóxido de carbono media de 8 horas a 23-46 mg/m³ (20-40 ppm). El nivel máximo permitido de Hb-CO es de 2.5 %, pero cuando se utiliza humo de leña en lugares mal ventilados este nivel se excede hasta más del 25 % con el tiempo de exposición, aún mayor que en los fumadores donde hay valores del 10-20 %. De manera que el nivel CO es mayor por la exposición al humo de leña que al del cigarro (47-49).

Por otro lado, las MMPS juegan un papel importante en la remodelación de todas las moléculas de matriz extracelular por lo que están involucradas también en la patogénesis de la EPOC. El incremento en la concentración plasmática de la MMP-1, MMP-7 y MMP-9 asociadas a exposición a humo de tabaco se ha demostrado ampliamente (32, 35-36).

Los descubrimientos hechos en exposición a humo de leña de una forma similar, sugieren que estas enzimas podrían estar involucradas también en los efectos patogénicos en la matriz extracelular a nivel pulmonar y de vías aéreas. En este trabajo encontramos que ambas formas de EPOC presentan incremento en los niveles plasmáticos de las tres MMPs, lo que ha sido muy estudiado en pacientes con EPOC por humo de tabaco (50-52), demostrando así un papel muy activo de estas enzimas durante el desarrollo de la inflamación sistémica de baja intensidad que caracteriza al EPOC, especialmente en el caso de la MMP-9 en la degradación de moléculas de las membrana basales e intersticiales de la matriz extracelular, como es el caso de las colágenas tipos I, III y IV y las fibras elásticas. Adicionalmente, un incremento de la MMP-9 se ha reportado en esputo, sangre y tejido de pulmones de fumadores con EPOC durante las exacerbaciones, que son etapas críticas que cursan con deterioro del FEV₁ unas 2-3 veces al año (53).

La MMP-9 que es originada por neutrófilos, se acumula preferentemente en la luz de las vías respiratorias más que en el tejido parenquimatoso, ha sido estudiada en pacientes con EPOC por tabaquismo y es expresada en células endoteliales y macrófagos. Bajo condiciones patológicas se modifica la expresión y actividad de MMPs conduciendo como parte del proceso inflamatorio, la remodelación de las matrices extracelulares y finalmente la destrucción de los tabiques alveolares observada (11, 14, 16). La concentración plasmática de MMP-9 alguna vez se propuso como un marcador pronóstico en la EPOC, sin embargo esto no es válido actualmente pero el incremento de los niveles plasmático y en esputo, se han utilizado como predictor del uso de ventilación mecánica (54). En este sentido ninguna de las MMPs posee un valor pronóstico ni diagnóstico a largo plazo en la EPOC.

La MMP-1 y MMP-7 actúan remodelando la matriz extracelular intersticial por lo que el hallazgo de su incremento en las pacientes con EPOC por humo de leña sugiere su participación en la remodelación y degradación del tejido alveolar, así como la desaparición de los alveolos en el enfisema (50).

La correlación negativa que muestran las concentraciones de las tres MMPs estudiadas con el VEF₁ resulta de gran relevancia en la fisiopatología de la EPOC por humo de leña, puesto que sugiere que los mecanismos enzimáticos son similares, lo que a su vez sugiere que, aunque requiere de más estudios, las mismas células pueden estar involucradas, tal es el caso de los macrófagos, los leucocitos polimorfonucleares y los fibroblastos, todos estos secretores de MMP-1 y MMP-7, además de las células epiteliales como los neumocitos Tipo II en los alveolos, así como las del epitelio bronquial y bronquiolar en las vías aéreas que secretan MMP-9.

10. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos podemos concluir que:

1. Las concentraciones plasmáticas de las metaloproteinasas 1, 7 y 9 se incrementan en mujeres con EPOC asociado a la exposición doméstica de humo de leña y secundaria al tabaquismo con relación a las mujeres sanas no fumadoras (controles).
2. Existe una correlación inversa entre la concentración plasmática de la MMP-1, la MMP-7 y la MMP-9 y el VEF₁ en mujeres con EPOC asociada a la exposición al humo de leña, lo cual es similar a lo observado en mujeres con EPOC secundario al tabaquismo.

11. PERSPECTIVAS

Se hace necesaria una futura investigación para clarificar el problema acerca de los mecanismos como estas MMPs participan de manera más específica en la matriz extracelular del pulmón y vías aéreas en las fases inflamatoria y degradativa de tejido pulmonar, así como cuáles son las fuentes celulares específicas de estas enzimas, durante el desarrollo patogénico de la EPOC en mujeres expuestas domésticamente al humo de leña, de igual manera para conocer si estos mecanismos son semejantes a los de la EPOC por tabaquismo.

12. REFERENCIAS

1. Tortora, G.J. Introducción al cuerpo humano: fundamentos de anatomía y fisiología. 7ª ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2008.
2. Guyton, A.C. Hall, J.E. Tratado de fisiología médica. 11ª ed. Madrid: Elsevier; 2006.
3. Despopoulos A, Silbernagl S. Color Atlas of Physiology. 6a Ed. New York: Thieme; 2009.
4. Collado R. Manual de Kinesiología: Sistema Respiratorio. UM [Internet]. 2004 [citado 15 de Abril] Disponible en: <http://www.um.edu.ar/catedras/claroline/backends/download.php?url=L1VOSURBRF9SRVNQSVJBVE9SSU8vMDEuX1Npc3RlbWFfcmVzcGlyYXRvcmlvX1BhcnRlX0kucGRm&cidReset=true&cidReq=CMK001SR>
5. Universidad de Cantabria. Estructura y Funciones del Aparato Respiratorio. Vol. 1 UC [Internet]. 2014 [Citado 16 de Abril] Disponible en: <http://ocw.unican.es/ciencias-de-la-salud/fisiologia-humana-2011-g367/material-de-clase/bloque-tematico-3.-fisiologia-del-aparato/tema-1.-estructura-y-funciones-del-aparato/tema-1.-estructura-y-funciones-del-aparato>
6. Le Vay D. Anatomía y Fisiología Humana. 2a ed. Barcelona: Editorial Paidotribo; 2004: 275-279
7. Levy, M.N, Berne, R. M., Koeppen, B.M., Stanton, B. A. Fisiología. 6ª ed. Barcelona: Elsevier; 2009.
8. Córdova, A. Fisiología dinámica. Barcelona: Masson; 2003.
9. Fox, S.I. Fisiología humana. 7ª ed. Madrid: McGraw-Hill, Interamericana; 2003.
10. Tortora, G.J. Derrickson, B. Principios de anatomía y fisiología. 11ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2006.
11. Silbernagl, S. Fisiología: texto y atlas. 7ª ed., rev. y ampl. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2009
12. Barnes PJ. Mediators of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Pharmacol Rev. 2004; 56: 515-548.

13. Standard for the diagnosis and care of patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Crit Care Med.* 1995; 152: S77-S120.
14. Barnes PJ. Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *NEJM* 2000; 343:269-280.
15. Gordillo R, Gómez L, Cifuentes R, Lamuño M, Pérez R. Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. *AMMCT.* 2002; 16: 201-210.
16. Markewitz BA, Owens MW, and Payne DK. The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am Med Sci.* 1999;318: 74-78.
17. Pérez-Padilla R, Regalado J, Vázquez-García JC. Reproducibilidad espirométrica y adecuación a valores de referencia internacionales en trabajadores mexicanos demandando incapacidad. *Salud Pública Mex.* 2001;43:113-121.
18. Ramirez-Venegas A, Sansores RH, Pérez-Padilla R, Regalado J, Velazquez A, Sanchez, C., and Mayar, M. E. Survival of patients with chronic obstructive pulmonary disease due to biomass smoke and tobacco. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006; 73: 393-397.
19. Aubry MC, Wright JL, Myers J L. The pathology of smoking-related lung diseases. *Clin Chest Med.* 2000; 21: 11-35.
20. Laura NN, Martínez MC, Barbón RD. Oxidación, inflamación y modificaciones estructurales. *Arch Bronconeumol.* 2007; 43 Supl 1:18-29
21. Janoff A. Elastases and emphysema. Current assessment of protease-antiprotease hypothesis. *Am, Rev Respir Dis.* 1985; 132: 417-433.
22. Linsenmayer TF. Collagen. En: Hay, E. D. (ed). *Cell Biol of extracellular Matrix.* Plenum Press, New York: 7-45, 1991.
23. Ohnishi K, Takai M, Kurokawa Y, Satomi S, and Konttinen YT. Matrix metalloproteinase-mediated extracellular matrix protein degradation in human pulmonary emphysema. *Lab. Invest.* 78: 1077-1087, 1998.
24. Wouters EFM, Groenewegen KH, Dentener MA, Vernooy JHJ. Systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: The role of exacerbations. *Proc Am Thorac Soc.* 2007; 4:626-634.

25. Finkelstein R, Fraser RS, Ghezzi H, Cosio MG. Alveolar inflammation and its relation to emphysema in smokers. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:1666-72.
26. Gutierrez M, Beroiza T, Borzone G, Ceviedes I, Céspedes J, Moreno R. (et-al). *Espirometría: Manual de Procedimientos.* *Rev Chi Enf Respir.* 2007; 23; 31-42.
27. Grupo de trabajo de la SEPAR para la práctica de la espirometría en clínica. *Recomendaciones SEPAR. Normativa para la práctica de la espirometría forzada.* *Arch Bronconeumol.* 1989; 25: 132–141.
28. Quanjer H, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC. Lung volumes and forced ventilatory flows. Report working party “standardization of lung function tests” European Community for steel and coal. Official Statement of the European Respiratory Society. *Eur Respir J.* 1993; 6 (suppl 16): 5–40.
29. Celli BR, MacNee W. ATS/ERS Task Force. Standards for the diagnosis and treatment of patients with COPD: a summary of the ATS/ERS position paper. *Eur Respir J.* 2004;23:932-946.
30. Menezes AM, Victora CG, Perez-Padilla R, PLATINO Team. The Platino project. Methodology of a multicenter prevalence survey of chronic obstructive pulmonary disease in major Latin American cities. *BMC Med Res Methodol.* 2004, 4:15.
31. Cascales M, Alvarez J. Metaloproteinasas, matriz extracelular y cáncer. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 2010; 76: 59:84.
32. Greenlee KJ, Werb Z, Kheradmand F. Matrix Metalloproteinases in Lung: Multiple, Multifarious, and Multifaceted. *Physiol Rev.* 2007;87:69-98.
33. Matrix Metalloproteinase-2 Protein in Lung Periphery Is Related to COPD Progression. *Chest.* 2007; 132:1733-1739.
34. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovascular Research.* 2006; 69:562-573.
35. Dahl M and Nordestgaard BG. Markers of early disease and prognosis in COPD. *International Journal of COPD.* 2009; 4:157-167.
36. Ramos C, Cisneros J, Gonzalez-Avila G, C, Becerril C, Ruiz V, and Montaña M. Increase of Matrix Metalloproteinases in Wood Smoke-Induced Lung Emphysema in Guinea Pigs. *Inhal Toxicol.* 2009; 21(2):119-32.

37. García A, Moreno D, Garmendia J, Sanctis J. Revisión de biomarcadores en asma y EPOC. *Neumol Cir Torax*. 2013; 72 (4): 299-305.
38. Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and celular mechanisms. *Eur Respir J*. 2003; 22: 672-688.
39. Sansores R, Aboud R, Becerril C, Montañó M, Ramos C, Vanda B, Selman M. Effect of exposure of guinea pigs to cigarrete smoke on elastolytic activity of pulmonary macrophage. *Chest*. 1997; 112:214-219.
40. Hu G, Zhou Y, Tian J, Yao W, Li J, Li B, Ran P: Risk of COPD from exposure to biomass smoke: a metaanalysis. *Chest*. 2010; 138:20-31.
41. Pérez-Padilla R, Regalado J, Vedal S, Paré P, Chapela R, Sansores R, Selman M. Exposure to biomass smoke and chronic airway disease in Mexican women. A case-control study. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996; 54: 701-706
42. Naeher LP, Brauer M, Lipsett M, Zelikoff JT, Simpson CD, Koenig JQ, Smith KR. Wood smoke health effects: a review. *Inhal Toxicol*. 2007; 19:67-106.
43. Morandi MT, Ward TJ. The Risk Assessment Workgroup. Biomass risk assessment: Defining the questions. *Inhal Toxicol*. 2010; 22:94-98.
44. Rylance J, Gordon SB, Naeher LP, Patel A, Balmes JR, Adetona O, Rogalsky DK, Martin WJ 2nd. Household air pollution: a call for studies into biomarkers of exposure and predictors of respiratory disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2013, 304: L571-L578.
45. Goldcopd.org Global Strategy for the Diagnosis: Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Updated February 2013. Available from: <http://www.goldcopd.org>. Accessed May 16, 2013.
46. Hu G, Zhou Y, Tian J, Yao W, Li J, Li B, Ran P: Risk of COPD from exposure to biomass smoke: a metaanalysis. *Chest*. 2010; 138:20-31.