

ROL DE LAS METALOPROTEINASAS Y SUS INHIBIDORES EN PATOLOGÍA TUMORAL

SILVIA CORONATO¹, GRACIELA LAGUENS^{1, 2}, VANDA DI GIROLAMO^{1, 2}¹Cátedra de Patología B, ²Cátedra de Inmunología,
Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, La Plata, Buenos Aires

Resumen Las metaloproteinasas (MMPs) intervienen en diversos procesos fisiológicos y patológicos del organismo. Regulan, por ejemplo, las vías de señalización que controlan el crecimiento celular, la inflamación y la angiogénesis. Cumplen funciones moduladoras en el complejo microambiente tumoral interviniendo en las etapas tempranas de la carcinogénesis, en la invasión y la producción de metástasis tumorales. Participan en el procesamiento de moléculas bioactivas como citoquinas, quemoquinas y factores de crecimiento. Las MMPs tienen como sustrato a las proteínas de la matriz extracelular (MEC) y su actividad es regulada por inhibidores endógenos (TIMPs). El adecuado balance entre ambas moléculas es fundamental para mantener la homeostasis. Debido al papel que desempeñan en diferentes etapas de la biología del cáncer, son un blanco potencial para futuras estrategias en la terapéutica de esta enfermedad.

Palabras clave: metaloproteinasas, TIMPs, cáncer, matriz extracelular

Abstract *Role of metalloproteinases and their inhibitors in tumors.* Metalloproteinases (MMPs) are involved in different physiological and pathological processes. They regulate several signaling pathways in cell growth, inflammation and angiogenesis. The MMPs modulate the complex tumor microenvironment and are involved in the early stages of carcinogenesis, tumor invasion and metastatic processes. MMPs participate in the processing of bioactive molecules such as cytokines, chemokines and growth factors. Their substrates are the extracellular matrix proteins and endogenous inhibitors (TIMPs) regulate their functions. The accurate balance between these two molecules, MMPs and TIMPs, is critical for maintaining homeostasis. Due to their role in cancer biology, MMPs are potential targets for future therapeutic strategies of this malignant disease.

Key words: metalloproteinases, TIMPs, cancer, extracellular matrix

La matriz extracelular (MEC) está formada por diversos componentes entre los que se encuentran proteoglicanos, glucosaminoglicanos, proteínas estructurales tales como colágeno y elastina, proteínas de adhesión como fibronectina y laminina y una familia de proteasas denominadas metaloproteinasas (MMPs) capaces de degradar las proteínas que forman la MEC y llevar a cabo diferentes funciones biológicas.

La MEC no cumple solo un papel de soporte de los órganos y tejidos, sino que interviene activamente en otras funciones como la regulación del ciclo celular, motilidad, supervivencia o apoptosis de las células¹.

En 1962, Gross y Lapierre demostraron la existencia de enzimas difusibles capaces de degradar geles de colágeno fibrilar². La degradación de proteínas extracelulares es esencial para que las células, en forma individual, puedan interactuar con su microambiente.

Las MMPs pertenecen a una familia de endopeptidasas zinc-dependientes que intervienen en los procesos fisiológicos de organogénesis, cicatrización, involución uterina y también en diversas condiciones patológicas, como la inflamación, enfermedades autoinmunes y carcinogénesis^{3, 4}. Se pueden detectar niveles elevados de MMPs en enfermedades del sistema nervioso central, incluyendo la enfermedad de Alzheimer, la isquemia cerebral, las infecciones, la enfermedad de Parkinson y la esclerosis múltiple⁵.

Aunque la primera función bien estudiada de las MMPs fue la degradación de la MEC, actualmente se considera que cumplen un papel importante en el procesamiento de moléculas bioactivas tales como factores de crecimiento, citoquinas y quemoquinas, así como en sus respectivos receptores⁶. Modulan a los mediadores de la inflamación como citoquinas y quemoquinas, estableciendo los gradientes de quemoquinas necesarias para la quimiotaxis de las células inflamatorias⁷. Facilitan la migración de células epiteliales interactuando entre éstas y las proteínas de la MEC por proteólisis de la misma matriz o de las proteínas de adhesión tisular, como las E-cadherinas. Intervienen en la remodelación de los tejidos durante la cicatrización de las heridas⁶. En la vasculatura influyen

Recibido: 20-IV-2012

Aceptado: 3-VIII-2012

Dirección postal: Dra. Vanda Di Girolamo, Departamento de Patología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Calle 60 y 120, 1900 La Plata, Buenos Aires, Argentina
Fax: (0054-221) 4892525 e-mail: vandadigirolamo@gmail.com

la migración, proliferación y apoptosis del músculo liso vascular y de células endoteliales⁸.

Debido a la capacidad que tienen las MMPs de intervenir en el desarrollo y destino de las células del organismo durante la embriogénesis, están sujetas a un estricto control por inhibidores endógenos. En 1971 Harper y Bloch⁹, demostraron que estas enzimas podían ser inhibidas por proteínas endógenas denominadas TIMPs (*tissue inhibitors of matrix metalloproteinases*).

Estructura y clasificación¹⁰⁻¹²

Las metaloproteasas constituyen una familia de proteasas dependiente del zinc, y en el hombre se conocen hasta el momento 24 MMPs, con una homología entre ellas del 30 al 50%. Se las clasifica, de acuerdo a sus diferencias estructurales, en cinco grupos claramente diferenciados a los que se sumaron una serie de MMPs que no correspondían a ninguna de estas categorías y no podían asociarse entre sí.

1. Colagenasas, MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18: son capaces de escindir el colágeno intersticial I, II y III dando lugar a colágeno desnaturalizado o gelatina. También digieren otras moléculas de la MEC.

2. Gelatinasas, MMP-2, MMP-9: degradan el colágeno desnaturalizado o gelatina. MMP-2 también digiere colágenos I, II y III y es expresada en condiciones normales por las células del estroma de la mayoría de los tejidos. La MMP-9, en cambio, está casi ausente en tejidos normales y se encuentra limitada a monocitos y macrófagos.

3. Estromalisinas, MMP-3, MMP-10, MMP-11: digieren diversos componentes de la MEC. Diferentes estudios indican que son elaboradas por fibroblastos del estroma al ser activados por una glicoproteína de membrana llamada EMMPRIN (*extracellular matrix metalloproteinase inducer*) producida por las células tumorales. Esta interacción lleva a la degradación de la membrana basal y de la MEC. Otra función de la MMP-3 es activar varias proMMPs.

4. Matrilisinas, MMP-7, MMP-26: estructuralmente son las más simples debido a que carecen del dominio hemopexina. Actúan sobre moléculas de la superficie celular y son expresadas específicamente por células tumorales de origen epitelial.

5. Metaloproteasas asociadas a membrana denominadas MT-MMP (*membrane-type matrix metalloproteinases*), forman parte de las membranas basales e intervienen en la actividad proteolítica de otras MMPs. Estas a su vez pueden ser de dos tipos:

- Proteínas transmembrana: unidas a la misma por un sitio hidrófobo: MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-24
- Proteínas que poseen glicofosfatidilinositol (GPI): MMP-17 y MMP-25.

6. MMPs que no están clasificadas en las categorías anteriores:

- MMP-12 es una metaloelastasa, expresada principalmente en macrófagos, e influye en su capacidad migratoria. Su principal sustrato es la elastina.
- MMP-9, detectada solo en hígado humano.
- MMP-20 o enamelisina, digiere a los miembros de la familia de las amelogeninas, proteínas de la matriz extracelular.
- MMP-22, cuya función aún se desconoce.
- MMP-23, se expresa principalmente en tejido reproductor y carece del dominio hemopexina, pero tiene un dominio rico en cisteína seguido de uno de tipo inmunoglobulina.
- MMP-28, se expresa en queratinocitos e interviene en la hemostasis y la cicatrización de heridas.

La estructura de las MMPs comprende varios dominios comunes a la mayoría de ellas^{10, 11} (Fig. 1).

- Péptido señal o predominio, necesario para el desplazamiento intracelular de la enzima hasta la membrana y que es eliminado después de la secreción de la proteasa
- Dominio propeptídico o prodominio con capacidad enzimática latente. Está formado por una secuencia peptídica con un residuo de cisteína, que interactúa con el sitio catalítico.
- Dominio catalítico carboxiterminal que contiene un átomo de zinc y otros dominios variables.
- Dominio tipo hemopexina, en la posición carboxiloterminale que interviene en la unión a sustratos específicos de las metaloproteasas y con los inhibidores endógenos.
- Dominio transmembrana, en el caso de las MMPs asociadas a la membrana plasmática.

Existe otra familia de metaloproteinasas conocidas bajo la sigla de ADAM (*desintegrin and metalloproteinase*)¹²⁻¹⁴. Fueron descritas en la década del 90 y hasta el momento se conocen en el hombre 25 subtipos. Presentan la particularidad de estar unidas a una molécula de desintegrina, ligando potencial para las integrinas y otros receptores. ADAMs son proteínas de membrana multifuncionales con una organización compleja de dominios que comprende: secuencia señalizadora, dominio metaloproteinasas, dominio tipo desintegrina, región rica en cisterna, dominio tipo receptor del factor de crecimiento epidérmico, región transmembrana, dominio citoplasmático.

Estas moléculas también se han asociado con los procesos de espermatogénesis, neurogénesis, migración de células tumorales, liberación de citoquinas y factores de crecimiento unidos a la membrana celular como el TGF α (factor de crecimiento transformante alfa) y EGF (factor de crecimiento epidérmico)¹⁵.

Hay sobreexpresión de ADAMs en diversos tumores malignos y su papel en el crecimiento y diseminación tumoral se relaciona con su actividad proteolítica^{16, 17}.

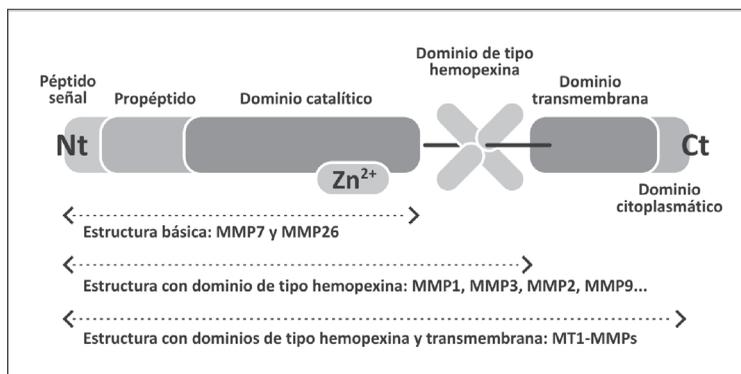


Fig. 1. Estructura básica de las metaloproteinasas

Actividad biológica

La MEC no es solamente un compartimiento extracelular de sostén, sino también es un reservorio de moléculas biológicamente activas. La degradación de los componentes de la MEC puede alterar el comportamiento y fenotipo celular. Varias MMPs y MT-MMPs ejercen una importante acción activadora sobre otras proMMPs y ellas mismas son activadas por otras proteasas. Estos procesos tienen lugar habitualmente en el espacio extracelular, pero existe un grupo de proteasas (MT-MMPs, MMP-11, MMP-23, MMP-28) que se activan dentro de la célula por medio de una pro-proteína convertasa del tipo furina¹¹.

Las proteasas también actúan como moléculas de señalización y pueden modular, a su vez, otras moléculas de señalización celular. No actúan solas; forman cascadas y circuitos y están interconectadas de manera dinámica en una red de señales. Este proceso es regulado por factores de crecimiento y citoquinas, aunque no se conoce en su totalidad cuáles son los mecanismos moleculares que intervienen.

El PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) produce aumento de expresión de MMP-1 y cuando actúa conjuntamente con TGF- β produce sobreexpresión de MMP-3 y TIMP-1. Estas moléculas están implicadas en la patogenia del asma bronquial. Su expresión en las células musculares lisas de las vías aéreas produce la degradación de colágeno y migración de estas células, contribuyendo a la remodelación de las vías aéreas que se observa en el asma¹⁸.

El EGF (factor de crecimiento epidérmico) induce la expresión de MMP-1 en fibroblastos de piel humana. La cicatrización de las heridas, la migración de queratinocitos y la reepitelialización son favorecidas al ser clivado el colágeno tipo I y III por MMP-1. La actividad colagenolítica se ejerce sobre la fibrilla de colágeno, haciéndole perder su estructura helicoidal y la secuencia de la cadena¹⁹. Cuando EGF se une a su receptor EGR-1 inhibe la expresión de MMP-9, debido a que reprime la

activación transcripcional de los genes de esta enzima en las células estromales.

VEGF (factor de crecimiento de endotelio vascular) y FGF-2 (factor de crecimiento de fibroblastos), son factores angiogénicos que pueden inducir la expresión de MMPs y facilitar la diseminación metastásica²⁰.

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) es una citoquina proinflamatoria liberada por macrófagos, linfocitos T y mastocitos. Provoca sobreexpresión de MMP-2, 3, 7 y 9 en el microambiente tumoral, aumentando la capacidad invasora de las células malignas²¹.

En la artritis reumatoidea, la MMP-13 tiene un papel importante en la destrucción del cartílago articular. Se ha demostrado que la citoquina proinflamatoria IL-1 β induce la expresión de genes de MMP-13 en los fibroblastos de la sinovial y aumento de la expresión de MMP-1^{22, 23}.

Inhibición de MMPs

Los inhibidores específicos de MMPs son los TIMPs. Se unen a las MMPs de manera no covalente en complejos estequiométricos (1:1), formando un complejo reversible y de alta afinidad con dichas proenzimas. La molécula de TIMP consta de 184-194 aminoácidos subdivididos en un subdominio N-terminal y uno C-terminal¹². En el hombre se han reconocido cuatro moléculas con actividad inhibitoria de MMPs⁴.

Entre las cuatro, inhiben todas las MMPs conocidas hasta el momento difiriendo entre ellas en cuanto a su solubilidad, regulación y en su interacción específica con la proenzima. No actúan con la misma efectividad frente a todas las MMPs. TIMP-1 lo hace preferentemente sobre proMMP-9; TIMP-2 sobre proMMP-2, mientras que TIMP-3 inhibe preferentemente a ADAMs²⁴⁻²⁶. TIMP-4 ha sido poco estudiado en comparación con los otros tres miembros del grupo pero, según Bourbulia y col.²⁷ inhibiría MMP-1 y 2.

Los TIMPs son proteínas multifactoriales involucradas en varias actividades biológicas independientes

del efecto inhibitorio sobre las MMPs. Intervienen en la inducción de la proliferación celular, inhibición de la apoptosis, migración celular, invasión y angiogénesis²⁸.

Se ha descrito un mecanismo único de regulación de la gelatinasa-A o MMP-2 a nivel de la superficie celular. La forma inactiva de esta MMP se puede unir a la MMP transmembrana, MT1-MMP, formando un complejo trimolecular con TIMP-2 en la superficie de la célula, que permite a una segunda molécula de MT1-MMP clivar el péptido N-terminal de la pro-MMP-2 y activar así la proteasa. En este mecanismo de activación, TIMP-2 juega un papel de activador y no de inhibidor, al actuar como una molécula adaptadora mientras que MT1-MMP juega un doble papel de molécula receptora y activadora¹¹.

El balance entre MMPs y sus inhibidores se ve alterado en el cáncer debido a la pérdida de las condiciones fisiológicas de equilibrio, la MEC se ve remodelada continuamente²⁹. La degradación de la MEC y consecuentemente el potencial invasivo y metastásico de las células tumorales es entonces el resultado de un desbalance entre las actividades de las MMPs y sus inhibidores. Cada una de estas moléculas está involucrada en diferentes pasos de la progresión tumoral³⁰.

Hay inhibidores inespecíficos de MMPs, como la macroglobulina α_2 , una glucoproteína presente en plasma y fluidos celulares, o la α_1 -antitripsina (α_1 -AT) que es un inhibidor de serinoproteasas producida por los hepatocitos, siendo el inhibidor de proteasa más abundante del suero humano y la principal defensa del pulmón en el enfisema. El incremento de MMP-9 en el pulmón durante esta enfermedad está asociado a una disminución de α_1 -AT. Esta enzima es liberada en el plasma y se une a los sitios activos de una variedad de proteinasas, incrementándose entre 3 y 5 veces en procesos inflamatorios, tumorales e infecciosos³¹.

MMPs y cáncer

Las MMPs son las principales mediadoras en las alteraciones observadas en el microambiente tumoral durante la progresión del cáncer³². En el crecimiento tumoral juegan un papel fundamental en la degradación del tejido conectivo y los componentes de la membrana basal, además de activar factores de crecimiento, receptores de superficie para moléculas de adhesión y quemoquinas²⁸. Esta interacción con los componentes de la MEC altera la respuesta celular al microambiente, lo que permite que las células tumorales se tornen menos adherentes y por lo tanto con más posibilidades de migrar y producir metástasis²⁷.

El papel que juegan las MMPs en el cáncer ha sido descrito hace décadas. Desde entonces se han realizado numerosos estudios para la identificación estructural y funcional de las MMPs responsables de la actividad proteolítica durante la progresión tumoral³³. Durante la

carcinogénesis las células tumorales interactúan con factores de crecimiento, citoquinas y distintas células, tales como células endoteliales, fibroblastos, macrófagos, mastocitos y pericitos presentes en el microambiente tumoral³⁴. La capacidad que tienen las células tumorales de migrar, invadir, metastatizar y formar sus propios vasos sanguíneos depende de estas interacciones. Las MMPs pueden degradar moléculas de adhesión celular y modular la interacción célula-célula y célula-MEC, liberar, activar o desactivar moléculas señalizadoras autocrinas y paracrinas y alterar receptores de la superficie celular^{12,35}.

La remodelación de la MEC es un evento activo durante la progresión tumoral que lleva a la formación de un nicho para la supervivencia y proliferación de las células tumorales³⁶.

Las MMPs pueden jugar distintos papeles durante la progresión del cáncer, dependiendo del estadio del tumor. En estadios tempranos, la proteólisis mediada por MMP 3 y 7 de las proteínas específicas que unen factores de crecimiento contribuye a la proliferación celular. Posteriormente, el clivaje de las moléculas de adhesión E-cadherina y CD44 activa la motilidad de las células tumorales y facilita las metástasis³⁷. MMP-8 en cambio, tiene un efecto protector disminuyendo el potencial metastásico de las células del cáncer de mama³⁸. La sobreexpresión de MMP-2 y 9 es índice de un pronóstico desfavorable al degradar el colágeno tipo IV localizado en las membranas basales e inducir la expresión de factores angiogénicos^{39,40}.

La invasión local de los tumores depende de la degradación de las proteínas de las membranas basales, como colágeno tipo IV o V y proteólisis del colágeno intersticial tipo I, II o III presente en el tejido conjuntivo que rodea las células tumorales⁴¹.

Se ha comprobado que los niveles de MMPs pueden afectar la conducta invasora del tumor y su habilidad para metastatizar⁴².

Las MMPs cumplen un papel complejo en la angiogénesis, promoviendo la migración de células endoteliales, liberando VEGF y otros factores proangiogénicos de la MEC, como FGF-2 y TGF β , que también estimulan la proliferación y migración de células endoteliales³⁶. En modelos animales se ha demostrado que las MMPs regulan la formación y maduración de nuevos vasos sanguíneos, a través del control que ejercen sobre los factores de crecimiento y citoquinas que actúan en el reclutamiento de pericitos⁴³. Sin embargo, algunas MMPs pueden tener un efecto inhibitorio sobre la angiogénesis, por ejemplo, la hidrólisis del plasminógeno genera fragmentos de angioestatina⁴⁴ y la proteólisis del colágeno XVIII da origen a la endostatina⁴⁵.

La transcripción de las MMPs es inducida por citoquinas inflamatorias como IL-1, IL-6 y TNF α y factores de crecimiento como EGF, factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), TGF- β ; por lo tanto, tienen un papel preponderante en la inflamación crónica presente en el microambiente

tumoral¹⁴. Otros factores, como TGF α e IL-4 inhiben su expresión y, por este motivo, podrían ser blancos de intervenciones terapéuticas en cáncer.

Hay sobreexpresión de ADAMs en diversos tumores malignos, y su papel en el cáncer y la diseminación a través de metástasis se relaciona con su actividad proteolítica. Se han detectado niveles aumentados de ADAM-12 en una variedad de tumores humanos incluyendo carcinoma de mama, colon, estómago, hepatocarcinoma y glioblastoma. En tumor de mama, ADAM-12 aumenta la capacidad de las células tumorales de modificar la MEC, facilitando la invasión y la metástasis¹⁶.

La molécula de ADAM se sintetiza como proADAM y se activa por acción de la furina o de las MMPs. Participa en la liberación de los factores de crecimiento TGF α y EGF, que pueden alterar las señales de membrana de las células tumorales, produciendo un aumento de la proliferación celular. Experimentalmente se ha comprobado que los tumores murinos que sobreexpresan ADAM-12 muestran una disminución de la apoptosis de las células tumorales, mientras que en las células estromales la apoptosis se ve incrementada. Se cree que ADAM-12 interactúa con el proto-oncogén c-src presente en las células tumorales⁴⁶.

En cáncer de próstata se estudió la expresión de ADAM-17 y el mecanismo que actúa en el proceso de la enfermedad. Los resultados mostraron que esta molécula contribuye a la progresión del cáncer de próstata andrógeno-independiente y que podría usarse como marcador predictivo de la enfermedad¹⁷. Mochizuki y col.⁴⁷ han señalado que ADAM-28 se sobreexpresa en el carcinoma de mama y está involucrado en la proliferación de las células tumorales, probablemente a través del aumento de la disponibilidad de factor de crecimiento tipo insulina (IGF-1). También ADAM-28 se sobreexpresa en los carcinomas de pulmón de células no pequeñas, mostrando correlación positiva con proliferación celular y metástasis⁴⁸.

MMPs y cáncer de mama

En condiciones fisiológicas hay un equilibrio entre las MMPs y sus inhibidores TIMPs. Gianelli y col.⁴⁹ explican que el desequilibrio entre estos componentes sería el responsable de la actividad proteolítica que favorece las metástasis. Sin embargo, los inhibidores tienen otras funciones biológicas como la regulación de las pro-MMPs, angiogénesis, proliferación celular y apoptosis⁵⁰. En cultivos de líneas celulares de cáncer de mama, la sobreexpresión de estas enzimas y sus inhibidores está asociada con un fenotipo más agresivo⁵¹.

Por lo general, cuando las MMPs se sobreexpresan en el tumor primario, lo hacen también en los ganglios linfáticos positivos, lo que indica un fenotipo similar en las células tumorales y las que colonizan en los ganglios linfáticos.

Al estudiar el lugar de expresión de las MMPs y sus inhibidores, se encontró aumento de MMPs-1, 7 y 14 y de TIMPs-1, 2 y 3 en el centro del tumor, comparado con menor expresión en la periferia. Esta diferencia puede deberse a la mayor densidad celular o a diferentes mecanismos de interacción entre células tumorales y la población de fibroblastos y otras células residentes en estas dos áreas del tumor. El contacto célula-célula aumenta la producción y activación de MMPs por las células tumorales y esto promueve la proteólisis peritumoral, la angiogénesis y la invasión²⁹.

Otras investigaciones⁵² también corroboran que MMP-2 y TIMP-3 se expresan más significativamente en los fibroblastos ubicados en el centro del tumor comparado con los que se hallan en el frente de invasión. No se observa esta expresión en los tejidos mamarios normales. MMP-7 fue expresada positivamente por fibroblastos del frente invasivo, y esta presencia se asoció significativamente con tumores de gran tamaño y poca diferenciación. La MMP-1 se asocia con ganglios linfáticos positivos. MMP-2 se sobreexpresa en estadios tempranos del tumor, mientras que la 9 en estadios más avanzados. MMP-1, 7, 9, 13, 14 y TIMP-1 se han relacionado con parámetros de tumores más agresivos, ganglios positivos, receptores de estrógenos negativos e inflamación peritumoral. MMP-9, 13 y TIMP-3, expresados por fibroblastos del centro del tumor se asocian con la presencia de metástasis a distancia. Estos estudios pueden resultar relevantes para obtener información sobre la conducta del tumor.

Niveles elevados de MMP-7 y 14 y TIMP-3 se hallaron en fibroblastos y células mononucleares de ganglios linfáticos metastásicos. MMPs-2 y 9 están involucradas en el crecimiento y metástasis del cáncer de mama y su sobreexpresión está correlacionada significativamente con tumores más agresivos y de mal pronóstico⁵³.

MMP-7 forma un complejo con la molécula CD44 en la superficie de las células tumorales, posiblemente para facilitar la degradación de la MEC. La sobreexpresión de MMP-7 en líneas de células de cáncer mamario (MCF7) produce activación de pro-MMP-2 y 9. La alta expresión de MMP-7 en cáncer de mama aumenta la probabilidad de metástasis^{54, 55}.

No se han demostrado diferencias significativas en la expresión de MMP-2 y 9 y TIMP 2 entre carcinoma *in situ* y carcinoma microinvasor⁵⁶.

MMP-11 se expresa en células estromales peritumorales y está asociada con la progresión del tumor y metástasis. MMP-18 proveniente de fibroblastos, a menudo está asociada con microinvación y juega un papel esencial durante la transición de lesiones *in situ* a carcinoma ductal de mama. También se ha encontrado una fuerte asociación entre la expresión de MMP-14 y pronóstico desfavorable de la enfermedad. Esta enzima actúa degradando colágeno tipo III e indirectamente

activa pro-MMP-2 e induce la expresión de VEGF aumentando la vascularización del tumor. Es detectable en las células tumorales y en las células estromales que rodean el tumor. Niveles elevados de MMP 14 y bajos de TIMP-2 son marcadores de mal pronóstico⁵⁷.

J. M. del Casar y col.⁵⁸ estudiaron la expresión de MMP-1, 3 y 7 y los inhibidores 1 y 3 en carcinomas mamarios de diferente tipos histológicos: ductales, lobulillares, mucinosos, tubulares, papilares y medulares. La expresión de proteasas e inhibidores se detectó en las células tumorales y en los fibroblastos y células inflamatorias mononucleares de la estroma. En los carcinomas ductales se observó sobreexpresión de estos marcadores, mientras que fue débil en los carcinomas tubulares, lobulillares, papilares, medulares y mucinosos. Este hallazgo sugiere una diferencia en la histogénesis del carcinoma mamario⁵⁹.

La determinación de MMPs-2 y 9 en suero puede ser utilizada como un factor pronóstico de la enfermedad, siendo particularmente elevadas en pacientes con estadio avanzado del tumor, con ganglios positivos y ausencia de receptores para estrógenos⁶⁰.

MMP-13 tiene un papel central en la activación de la cascada, incrementando la capacidad invasora de las células malignas⁶¹.

Con respecto a los TIMPs, independientemente de su función inhibidora de MMPs, interactúan con proteínas de la superficie celular, modulan señales de transducción y regulan la apoptosis, siendo TIMP-3 proapoptótico y TIMP-1 antiapoptótico, mientras que TIMP-2 y 4 tienen ambas funciones. En cáncer de mama, la expresión de TIMP-1 por las células epiteliales está asociada a mal pronóstico, ya que estimula la carcinogénesis y confiere un fenotipo más agresivo. Se puede considerar como un activador oncogénico por la inhibición de la apoptosis⁶².

Mylona y col.⁶³ detectaron baja expresión de TIMP-3 en el citoplasma de las células malignas y en los fibroblastos peritumorales. Su presencia fue correlacionada con tumores de alto grado histológico y nuclear. La expresión reducida de TIMP-3 está relacionada con desregulación del ciclo celular y proliferación de células tumorales, mientras que su sobreexpresión es índice de buen pronóstico.

MMPs y otros tumores

En cáncer de colon la expresión de genes de MMPs-1, 2, 3, 7 y 9 se encuentra significativamente aumentada comparada con su expresión en la mucosa normal o en adenomas⁶⁴. Este hallazgo se asocia a mal pronóstico de la enfermedad. En trabajos recientes se ha demostrado que hay mayor expresión de MMPs en los bordes del tumor que en la zona central⁶⁵. Altos niveles epiteliales de MMP-2 en cáncer gástrico están asociados a una supervivencia

corta, mientras que la sobreexpresión de TIMP-2 se asocia a tumores gástricos más diferenciados, con un fenotipo menos agresivo⁶⁶.

Publicaciones recientes⁶⁷ consideran que la MMP-9 en el carcinoma de pulmón de células no pequeñas puede ser considerada un biomarcador confiable, y junto a otros factores pronósticos predice su capacidad biológica.

En conclusión, las MMPs no solo degradan la MEC y las membranas basales. Sus acciones son múltiples: modulan la angiogénesis, regulan el curso del proceso inflamatorio y facilitan el reclutamiento de células inflamatorias a través de su acción sobre quemoquinas y citoquinas. El balance entre la actividad de las MMPs y sus inhibidores es esencial en la degradación de la MEC. Cuando se altera, da origen a numerosas patologías, como la destrucción de tejidos, inflamación crónica (artritis reumatoidea y enfermedad pulmonar obstructiva crónica), desórdenes neurológicos, progresión tumoral y establecimiento de metástasis^{68, 69}.

Las MMPs están asociadas a numerosos cánceres en humanos y pueden ser consideradas como blancos en el tratamiento de los mismos. Un avance importante ha sido la obtención de inhibidores sintéticos de MMPs, que han dado resultados promisorios en el tratamiento de tumores en modelos animales.

Su importancia en la terapia antitumoral reside en la comprobación de que su administración es capaz de bloquear la invasión tumoral en experimentos *in vitro* e *in vivo*⁷⁰. La mayoría de los inhibidores obtenidos hasta el momento son derivados pseudopeptídicos con un grupo quelante capaz de inactivarlos.

La primera generación de inhibidores de estas características son Batimastat y Marimastat. Otros inhibidores como minociclina o doxiciclina, inhiben tanto la actividad enzimática de MMPs como su síntesis, por bloqueo de la transcripción. La última generación de inhibidores sintéticos incluye bifosfonatos que son capaces de alterar el balance de MMPs/TIMPs en tumores de mama⁷¹.

Estas nuevas moléculas se utilizan ya en ensayos clínicos para el tratamiento de diversos tumores, aunque su uso se ve limitado debido a sus efectos tóxicos y la falta de especificidad para determinadas MMPs. Otro factor que complica el aspecto terapéutico es la dualidad de la acción de varias MMPs. Por ejemplo, ADAMs tienen actividad de desintegrina con presencia de trombospondina, que bloquea la activación de la angiogénesis inducida por VEGF⁷².

Entre las metaloproteasas estudiadas, MT1-MMP con dominio hemopexina, es una molécula con posibilidades de ser utilizada como blanco para tratar distintas neoplasias. Los estudios de Remacle y col.⁷³ estudian la utilización terapéutica de un inhibidor de esta enzima que se une específicamente al dominio hemopexina. Este inhibidor detiene el crecimiento tumoral *in vivo* provocando la aparición de pequeños tumores fibróticos. Estos hallazgos sugieren un rol importante del dominio hemopexina en el crecimiento tumoral.

Marimastat es un inhibidor sintético que ha sido evaluado clínicamente en los últimos años. En varios modelos *in vitro* se han demostrado sus propiedades antiangiogénicas, al bloquear la migración y proliferación de células endoteliales en la matriz extracelular⁷⁴.

La inhibición de MMPs puede realizarse indirectamente, por ejemplo a través del bloqueo de distintas moléculas activadoras. En ensayos con células de fibrosarcoma humano se utilizó la droga capsaicina, con capacidad para inhibir EGF, activador de MMPs. Se observó inhibición de MMP-9 y MT1-MMP sin alterar su expresión, e inhibición de la migración celular⁷⁵.

La detección de diferentes patrones de MMPs expresados en células tumorales de pacientes con cáncer, podría facilitar el uso racional de una terapéutica basada en inhibidores de MMPs y quimioterapia, contribuyendo a disminuir los efectos colaterales de esta última.

Conflictos de interés: Los autores declaramos no tener conflictos de interés

Bibliografía

- Hynes RO. The extracellular matrix: not just pretty fibrils. *Science* 2009; 326: 1216-9.
- Gross J, Lapierre CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 1962; 45: 1014-22.
- Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8: 221-33.
- Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006; 69: 562-73.
- Moore CS, Crocker SJ. An alternative perspective on the roles of TIMPs and MMPs in pathology. *Am J Pathol* 2012; 180: 12-6.
- Gill SE, Parks WC. Metalloproteinases and their inhibitors: regulators of wound healing. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40: 1334-47.
- Manicone AM, Mc Guire JK. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 34-41.
- Newby AC. Matrix metalloproteinase inhibition therapy for vascular diseases. *Vascular Pharmacol* 2012; 56: 232-44
- Harper E and Bloch KJ. The zymogen of tadpole collagenase. *Biochemistry* 1971; 10: 3041-55.
- Arvelo F, Cotte C. Metalloproteinases in tumor progression. *Invest Clin*. 2006; 47: 185-205.
- Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92: 827-39.
- Cascales Angosto M, Alvarez-Gómez JA. Metalloproteinases, matriz extracelular y cáncer. *An R Acad Nac Farm* 2010; 76: 59-84.
- Flores-Reséndiz D, Castellanos-Juárez E, Benítez-Bribiesca L. Proteases in cancer progression. *Gac Med Mex* 2009;145: 131-42.
- Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell* 2010; 141: 52-67.
- Edwards DR, Handsley MM, Pennington CJ. The ADAM metalloproteinases. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 258-89.
- Roy R, Wewer U, Moses M. Exploring the role of ADAM 12 in breast cancer. *AACR Meeting Abstracts* 2006: 1025.
- Xiao LJ, Lin P, Lin F, et al. ADAM17 targets MMP-2 and MMP-9 via EGFR-MEK-ERK pathway activation to promote prostate cancer cell invasion. *Int J Oncol* 2012; 40: 1714-24.
- Ito I, Fixman ED, Asai K, et al. Platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta modulate the expression of matrix metalloproteinases and migratory function of human airway smooth muscle cells. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1370-80.
- Park CH, Chung JH. Epidermal growth factor-induced matrix metalloproteinase-1 expression is negatively regulated by p38 MAPK in human skin fibroblasts. *J Dermatol Sci* 2011; 64: 134-41.
- Stetler-Stevenson WG. The tumor microenvironment: regulation by MMP-independent effects of tissue inhibitor of metalloproteinases-2. *Cancer Metastasis Rev* 2008; 27: 57-66.
- Hagemann T, Robinson SC, Schulz M, Trümper L, Balkwill FR, Binder C. Enhanced invasiveness of breast cancer cell lines upon co-cultivation with macrophages is due to TNF-alpha dependent up-regulation of matrix metalloproteinases. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1543-9.
- Lee YA, Choi HM, Lee SH, et al. Hypoxia differentially affects IL-1β-stimulated MMP-1 and MMP-13 expression of fibroblast-like synoviocytes in an HIF-1α-dependent manner. *Rheumatology (Oxford)* 2012; 51: 443-50.
- Schmucker AC, Wright JB, Cole MD, Brinckerhoff CE. Distal interleukin-1β (IL-1β) response element of human matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) binds activator protein 1 (AP-1) transcription factors and regulates gene expression. *J Biol Chem* 2012; 287: 1189-97.
- Lambert E, Dassé E, Haye B, Petitfrère E. TIMPs as multifacial proteins. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 49: 187-98.
- Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci* 2002; 115: 3719-27.
- Fernández CA, Butterfield C, Jackson G, Moses MA. Structural and functional uncoupling of the enzymatic and angiogenic inhibitory activities of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2): loop 6 is a novel angiogenesis inhibitor. *J Biol Chem* 2003; 278: 40989-95.
- Bourboullia D, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): Positive and negative regulators in tumor cell adhesion. *Semin Cancer Biol* 2010; 20: 161-8.
- Van Damme J, Struyf S, Opdenakker G. Chemokine-protease interactions in cancer. *Semin Cancer Biol* 2004; 14: 201-8.
- García MF, González-Reyes S, González LO, et al. Comparative study of the expression of metalloproteinases and their inhibitors in different localizations within primary tumours and in metastatic lymph nodes of breast cancer. *Int J Exp Pathol* 2010; 91: 324-34.
- Chang C, Werb Z. The many faces of metalloproteinases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. *Trends Cell Biol* 2001; 11: S37-43.
- Omachi TA, Eisner MD, Rames A, Markovtsova L, Blanc PD. Matrix metalloproteinase-9 predicts pulmonary status declines in α1-antitrypsin deficiency. *Respir Res* 2011; 23: 12:35.
- Gialeli C, Theocharis AD, Karamanos NK. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *FEBS J* 2011; 278: 16-27.
- Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, Hart I, Foltz CM, Shafie S. Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature* 1980; 284: 67-8.
- Noël A, Jost M, Maquoi E. Matrix metalloproteinases at cancer tumor-host interface. *Semin Cell Dev Biol* 2008; 19: 52-60.
- Witz IP. Tumor-microenvironment interactions: dangerous liaisons. *Adv Cancer Res* 2008; 100: 203-29.
- Hua H, Li M, Luo T, Yin Y, Jiang Y. Matrix metalloproteinases in tumorigenesis: an evolving paradigm. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68: 3853-68.

37. Chabottaux V, Noel A. Breast cancer progression: insights into multifaceted matrix metalloproteinases. *Clin Exp Metastasis* 2007; 24: 647-56.
38. Decock J, Hendrickx W, Vanleeuw U, et al. Plasma MMP1 and MMP8 expression in breast cancer: protective role of MMP8 against lymph node metastasis. *BMC Cancer* 2008; 8: 77.
39. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 161-74.
40. Gonzalez LO, Corte MD, Vazquez J, et al. Study of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in ductal in situ carcinomas of the breast. *Histopathology* 2008; 53: 403-15.
41. Rucci N, Sanità P, Angelucci A. Expanding View of the Role of Matrix Metalloproteases in Metastatic Growth. *Curr Mol Med* 2011; 11: 609-22.
42. Sun J. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitor of metalloproteinases are essential for the inflammatory response in cancer cells. *J Signal Transduct* 2010; 2010: 985132.
43. Sounni NE, Paye A, Host L, Noël A. MT-MMPS as regulators of vessel stability associated with angiogenesis. *Front Pharmacol* 2011; 2: 111.
44. Patterson BC, Sang QA. Angiostatin-converting enzyme activities of human matrilysin (MMP-7) and gelatinase B/Type IV collagenase (MMP-9). *J Biol Chem* 1997; 272: 28823-25.
45. Lin HC, Chang JH, Jain S, et al. Matrilysin cleavage of corneal collagen type XVIII NC1 domain and generation of a 28-kDa fragment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42: 2517-24.
46. Kvelborg M, Sanjay A, Frohlich C, Alberchtsen R, Wewer U. ADAM 12 and SRC interactions in cancer. *Proc Amer Assoc Canc Res* 2006; 47: 395.
47. Mochizuki S, Tanaka R, Shimoda M, et al. Connective tissue growth factor is a substrate of ADAM28. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 402: 651-7.
48. Ohtsuka T, Shiomi T, Shimoda M, et al. ADAM28 is over-expressed in human non-small cell lung carcinomas and correlates with cell proliferation and lymph node metastasis. *Int J Cancer* 2006; 118: 263-73.
49. Giannelli G, Erriquez R, Fransvea E, et al. Proteolytic imbalance is reversed after therapeutic surgery in breast cancer patients. *Int J Cancer* 2004; 109: 782-5.
50. Jiang Y, Goldberg ID, Shi YE. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. *Oncogene* 2002; 21: 2245-52.
51. Figueira RC, Gomes LR, Neto JS, Silva FC, Silva ID, Sogayar MC. Correlation between MMPs and their inhibitors in breast cancer tumor tissue specimens and in cell lines with different metastatic potential. *BMC Cancer* 2009; 9: 20.
52. Del Casar JM, González LO, Alvarez E, et al. Comparative analysis and clinical value of the expression of metalloproteases and their inhibitors by intratumor stromal fibroblasts and those at the invasive front of breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 2009; 116: 39-52.
53. Jinga DC, Bliदारu A, Condrea I, et al. MMP-9 and MMP-2 gelatinases and TIMP-1 and TIMP-2 inhibitors in breast cancer: correlations with prognostic factors. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 499-510.
54. Wang BQ, Zhang CM, Gao W, Wang XF, Zhang HL, Yang PC. Cancer-derived matrix metalloproteinase-9 contributes to tumor tolerance. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1525-33.
55. Vizoso FJ, González LO, Corte MD, et al. Study of matrix metalloproteinases and their inhibitors in breast cancer. *Br J Cancer* 2007; 96: 903-11.
56. Kim HJ, Park CI, Park BW, Lee HD, Jung WH. Expression of MT-1 MMP, MMP2, MMP9 and TIMP2 mRNAs in ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of the breast. *Yonsei Med J* 2006; 47: 333-42.
57. Têtu B, Brisson J, Wang CS, et al. The influence of MMP-14, TIMP-2 and MMP-2 expression on breast cancer prognosis. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R28.
58. Del Casar JM, González-Reyes S, González LO, et al. Expression of metalloproteases and their inhibitors in different histological types of breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 811-9.
59. González LO, González-Reyes S, Junquera S, et al. Expression of metalloproteases and their inhibitors by tumor and stromal cells in ductal carcinoma in situ of the breast and their relationship with microinvasive events. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 1313-21.
60. Patel S, Sumitra G, Koner BC, Saxena A. Role of serum matrix metalloproteinase-2 and -9 to predict breast cancer progression. *Clinical Biochemistry* 2011; 44: 869-72.
61. Zhang B, Cao X, Liu Y, et al. Tumor-derived Matrix Metalloproteinase-13 (MMP-13) correlates with poor prognoses of invasive breast cancer. *BMC Cancer* 2008; 8: 83-93.
62. Liu XW, Taube ME, Jung KK, et al. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 protects human breast epithelial cells from extrinsic cell death: a potential oncogenic activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-1. *Cancer Res* 2005; 65: 898-906.
63. Mylona E, Magkou C, Giannopoulou I, et al. Expression of tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMP)-3 protein in invasive breast carcinoma: relation to tumor phenotype and clinical outcome. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R57.
64. Surlin V, Ioana M, Pleșea IE. Genetic patterns of metalloproteinases and their tissular inhibitors - clinicopathologic and prognostic significance in colorectal cancer. *Rom J Morphol Embryol* 2011; 52: 231-6.
65. Hong SW, Kang YK, Lee B, et al. Matrix metalloproteinase-2 and -7 expression in colorectal cancer. *J Korean Soc Coloproctol* 2011; 27: 133-9.
66. Alakus H, Grass G, Hennecken JK, et al. Clinicopathological significance of MMP-2 and its specific inhibitor TIMP-2 in gastric cancer. *Histol Histopathol* 2008; 23: 917-23.
67. Shao W, Wang W, Xiong XG, et al. Prognostic impact of MMP-2 and MMP-9 expression in pathologic stage IA non-small cell lung cancer. *J Surg Oncol* 2011; 104: 841-6.
68. Klein T, Bischoff R. Physiology and pathophysiology of matrix metalloproteases. *Amino Acids* 2011; 41: 271-90.
69. Kim EM, Hwang O. Role of matrix metalloproteinase-3 in neurodegeneration. *J Neurochem* 2011; 116: 22-32.
70. Diaz RJ, Eichten A, de Visser KE, Coussens LM. Matrix Metalloproteinases: mediators of tumour-host cell interactions. In: GG Meadows, ed. *Integration/ Interaction of Oncologic Growth*, N.York: Springer, 2005, 81-126.
71. Bauvois B. New facets of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 as cell surface transducers: outside-in signaling and relationship to tumor progression. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1825: 29-36.
72. Iruela-Arispe ML, Carpizo D, Luque A. ADAMTS1: a matrix metalloprotease with angioinhibitory properties. *Ann N Y Acad Sci* 2003; 995: 183-90.
73. Remacle AG, Golubkov VS, Shiryayev SA, et al. Novel MT1-MMP small-molecule inhibitors based on insights into hemopexin domain function in tumor growth. *Cancer Res* 2012; 72: 2339-49.
74. van Wijngaarden J, Snoeks TJ, van Beek E, et al. An in vitro model that can distinguish between effects on angiogenesis and on established vasculature: actions of TNP-470, marimastat and the tubulin-binding agent Ang-510. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391: 1161-5.
75. Hwang YP, Yun HJ, Choi JH, et al. Suppression of EGF-induced tumor cell migration and matrix metalloproteinase-9 expression by capsaicin via the inhibition of EGFR-mediated FAK/Akt, PKC/Raf/ERK, p38 MAPK, and AP-1 signaling. *Mol Nutr Food Res* 2011; 55: 594-605.