

El rol de las METALOPROTEINASAS de la matrix en la curación de heridas

J Am Podiatric Med Assoc 92(1): 12-18, 2002) **David G. Armstrong, DPM*** **Edward B. Jude, MD†**

*Director of Research and Education, Department of Surgery, Southern Arizona Veterans Affairs Medical Center, Tucson

Se discute la estructura, clasificación, función y regulación de las metaloproteinasas de la matriz en condiciones normales y cicatrización anormal.

Los resultados de los estudios clave sugieren que la metaloproteinasas 8de la matriz derivada de neutrófilos (MMP-8) es la colagenasa predominante presente en la cicatrización normal de las heridas, y que el exceso en la producción y la activación de esta colagenasa puede estar involucrada en la patogénesis de las úlceras crónicas de la pierna, las que no sanan.

Excesiva actividad colagenolítica en estas heridas crónicas es posible a causa de la reducción de los niveles de tejido inhibidor de la metalo-proteasa 1 (TIMP-1).

Sin embargo, hasta hace poco, no ha habido estudios que evalúan los niveles de de las metaloproteinasas de la matriz o inhibidores tisulares de la actividad de la metaloproteinasas en las heridas crónica del pie diabético. Mejorar los conocimientos básicos e intervención farmacéutica

en este ámbito en última instancia, puede ayudar a los médicos a identificar y proactiva intervenir en un esfuerzo por prevenir que las heridas normales se conviertan en crónicas. Esto puede evitar que la alta prevalencia de morbilidad asociada con este significativo problema de salud.

La respuesta del cuerpo a una lesión tisular inicial es a la vez complejo y altamente organizado (Fig. 1) .1 Esta respuesta se puede dividir en iniciación (coagulación), inflamación, proliferación y maduración. El desarrollo y la elaboración de un coágulo proporciona una hemostasia y la fundación de lo que más tarde formarán la matriz extracelular de la herida. Esta matriz extracelular existe principalmente para facilitar la migración celular, la adhesión, contracción de la herida, y epitelización.

Transformación, organización, y el mantenimiento de la matriz extracelular dependerá de varios altamente controlado procesos intracelulares y extracelulares.

Un principal agente de transformación y mantenimiento es el grupo de enzimas conocidas como metaloproteinasas de la matriz.

Metaloproteinasas de la matriz son las enzimas que pertenecen a la familia de Metaloendopeptidasas que juegan un papel central en la curación de la herida.

Cuando se estudió por primera vez durante la Segunda Guerra Mundial, la degradación de la matriz extracelular era más importante para la industria del cuero que para la industria biomédica.

Más de una generación más tarde, la biología desarrollista y estructural equipararon las metaloproteinasas de la matriz con potenciales e importantes procesos biomédicos.

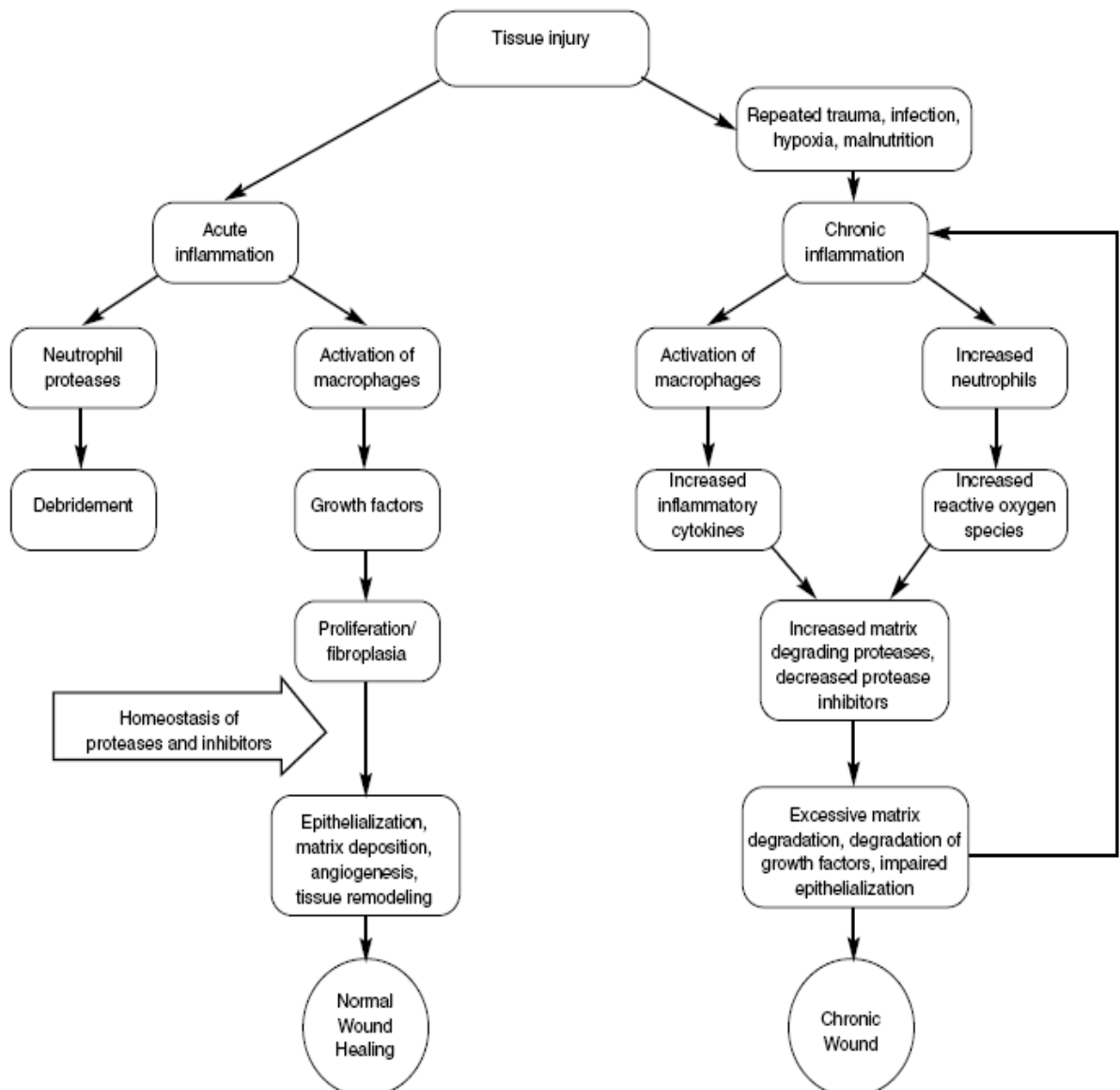
Experimentos Anfibios demostraron que esta enzima digiere el colágeno, una los principales componentes de la piel.

Las metaloproteinasas de la matriz del tejido degradan varias sustancias en la matriz extracelular, incluyendo el cartílago, tendones y fibrina, para facilitar la migración de las células, el depósito de nueva matriz extracelular, y el desarrollo de nuevo tejido.

Por lo menos cuatro diferentes subconjuntos de las enzimas existentes en la familia de las metaloproteinasas de la matriz: colagenasas, gelatinasas, stromelysinas, y

metaloproteinasas de tipo membrana. Dieciséis metaloproteinasas de la matriz ya han sido identificadas y caracterizadas. Cada una de estas enzimas tiene una especificidad para un diferente sustrato. Por lo tanto, están involucrados en cualquier proceso que tiene que ver con la reorganización del tejido, la inflamación y remodelación. En un estado no patológico, la compleja interacción entre metaloproteinasas de la matriz, otros receptores y mediadores que circulan en la matriz extracelular, resultan en el mantenimiento notablemente eficiente de la matriz. El fallo de la regulación de estas metaloproteinasas de la matriz se ha correlacionado con numerosos procesos patológicos incluyendo el crecimiento del tumor, artritis, aterogénesis, enfisema y defectuosa curación de la herida. El presente artículo se centra en la estructura, clasificación, actividad temporal, función, activación e inhibición de las cuatro clases de metaloproteinasas de la matriz, con especial atención dada a la normal cicatrización de heridas.

Figura 1. Camino de las heridas normales y crónicas. Adaptado de Nwomeh y cols



Características Estructurales y funcionales

Las características que hacen a las metaloproteinasas de la matriz únicas entre las enzimas se pueden dividir en cinco áreas principales:

- 1) presencia de un Ion de zinc en el sitio catalizador,
- 2) la secreción desde la célula en forma inactiva,
- 3) una secuencia de aminoácidos extremadamente similares,
- 4) la especificidad para degradar al menos un componente de la matriz extracelular, y
- 5) la inhibición por los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas.

Todas las metaloproteinasas de la matriz son relativamente similares en la estructura y poseen varios dominios comunes. La primera clave de dominio es el péptido señal, que apunta la molécula para la secreción desde las células que la producen.- Esta región de la molécula se rompe antes de la secreción y generalmente no está presente en el proenzima inactiva. La segunda clave de dominio es el propéptido de dominio. La escisión de este dominio activa la enzima. El tercera región es el dominio catalítico, que contiene una subregión para el zinc vinculante. El dominio final es estructuralmente similar a la molécula de hemopexina, por lo que se refiere como la hemopexina dominio. Las diferencias en este dominio modulan el individual sustrato específico de las metaloproteinasas de la matriz. Este dominio está presente en todas las metaloproteinasas de la matriz salvo en la metaloproteinasas 7 (MMP-7)

Características por Subclase

Colagenasa. MMP-1, MMP-8 y MMP-13 son las únicas enzimas en los mamíferos con la capacidad de escindir la triple hélice del colágeno fibrilar.

La colagenasa Intersticial (MMP-1) parece tener una actividad preferente contra el colágeno tipo III.

Colagenasa de los Polimorfonucleares (MMP-8) tiene una afinidad por el colágeno tipo I.

MMP-13 parece tener la capacidad única de clivar el colágeno tipo I, tipo II, y tipo III. MMP-13 sólo se ha aislado en ratas, en la matriz extracelular de los cartílagos artríticos, en heridas crónicas, y en tejido óseo fetal.-

Si bien todas las colagenasas tienen la capacidad única para romper el colágeno fibrilar, también son secundariamente activos frente a otros materiales en la matriz extracelular.

MMP-1 y MMP-8 pueden degradar la gelatina y los tipos VII, VIII, X el colágeno.- La MMP-8 se almacena en gránulos dentro de los neutrófilos y una vez activado se puede liberar en segundos.

La MMP-1, por el contrario, debe ser transcrita por el gen adecuado. Por lo tanto, hay una brecha significativa (cerca de 1 / 2 día) entre la transcripción y la secreción de esta colagenasa.

La función de la colagenasa durante la cura normal de la herida ha sido relativamente mal definida por limitaciones metodológicas en muchos estudios. La mayoría de los modelos han utilizado el fluido de las ampollas de una herida por

quemadura quemadura o del drenaje postoperatorio (A menudo después de la mastectomía). Sin embargo, recientemente Nwomeh et al utilizan extractos de tejidos durante la curación de las heridas normales, recogidos periódicamente en un vendaje oclusivo. Este estudio, realizado en voluntarios humanos sanos, indicó que los niveles de MMP-8 alcanzó un máximo al 4º día y persistió durante aproximadamente 1 semana. Los niveles de MMP-1 no eran esencialmente detectables hasta varios días después de la herida, y alcanzó un pico aproximadamente a la 1 semana después de la MMP-8.

La MMP-8 fue más notable en la herida en su punto más alto (cerca de dos órdenes de magnitud) en comparación con el pico de concentración de MMP-1.

A la vista de los datos anteriores, es posible plantear la hipótesis con respecto a un mecanismo específico de acción.

A las pocas horas después de herirse, los glóbulos blancos (principalmente neutrófilos) comienzan a infiltrarse en la herida durante la fase inflamatoria de la curación. Estos neutrófilos liberan numerosos factores y proteínas, incluida la MMP-8. Puede ser postulado que la mayor concentración de MMP-8 que es requerida en la herida en este momento en comparación con los valores de MMP-1, es debido a la gran cantidad de desbridamiento y al daño del tipo de colágeno I presente (para los que MMP-8 tiene una afinidad). Más tarde, en la fase proliferativa de la curación, el colágeno tipo III pueden estar en mayor abundancia que la de tipo I, y en los requisitos para la remodelación a gran escala puede ser menos extensa. Esto puede explicar por la concentración relativamente baja de MMP-1 recogida y aislada en el estudio Nwomeh et al.

La MMP-1 es producida y secretada predominantemente por las células presentes en la etapas post-agudas de la cicatrización de la herida (fibroblastos, células endoteliales). Desde luego, una menor actividad de la colagenasa en presencia de una estable y madura matriz puede permitir mejor la migración de queratinocitos cuando la normal herida se mueve hacia la epitelización.

Gelatinasas. Mientras que la MMP-1, MMP-8 y MMP-13 tienen afinidades diferentes para los tipos de colágeno I y III, **las gelatinasas (MMP-2 y MMP-9)** clivan otros tipos de colágeno: tipos (IV, V, VII y X), la elastina, las membranas basales, y el colágeno desnaturalizado.

Las gelatinasas también pueden actuar sinérgicamente con la familia de colagenasas por otros tipos degradados de colágenos I, II y III después de que se han sido escindidos en la triple hélix.

Las MMP-2 y MMP-9 son secretadas por diferentes células. MMP-2 es secretadas por los fibroblastos, y la más grande molecularmente MMP-9 se produce principalmente en los leucocitos y quizá también por keratinocitos. En losa fluidos de las heridas por mastectomía Aguda y mioplastia se han demostrado altos niveles de MMP-2 y MMP-9 cuando en comparación con su circulación en plasma, con una poca mayor concentración de MMP-9 que de MMP-2.

Esto sería coherente con una herida aguda llena de células inflamatorias. Como se mencionó anteriormente, MMP-9 es excretada por los neutrófilos, mientras que MMP-2 es generalmente derivada de los fibroblastos.

En una herida escisión o estudio zimograma gel de diversos componentes de la matriz extracelular, Arumugam et al observaron que MMP-2 y MMP-9 persistieron incluso después que la herida cerró, lo que sugiere que estas metaloproteinasas de la matriz

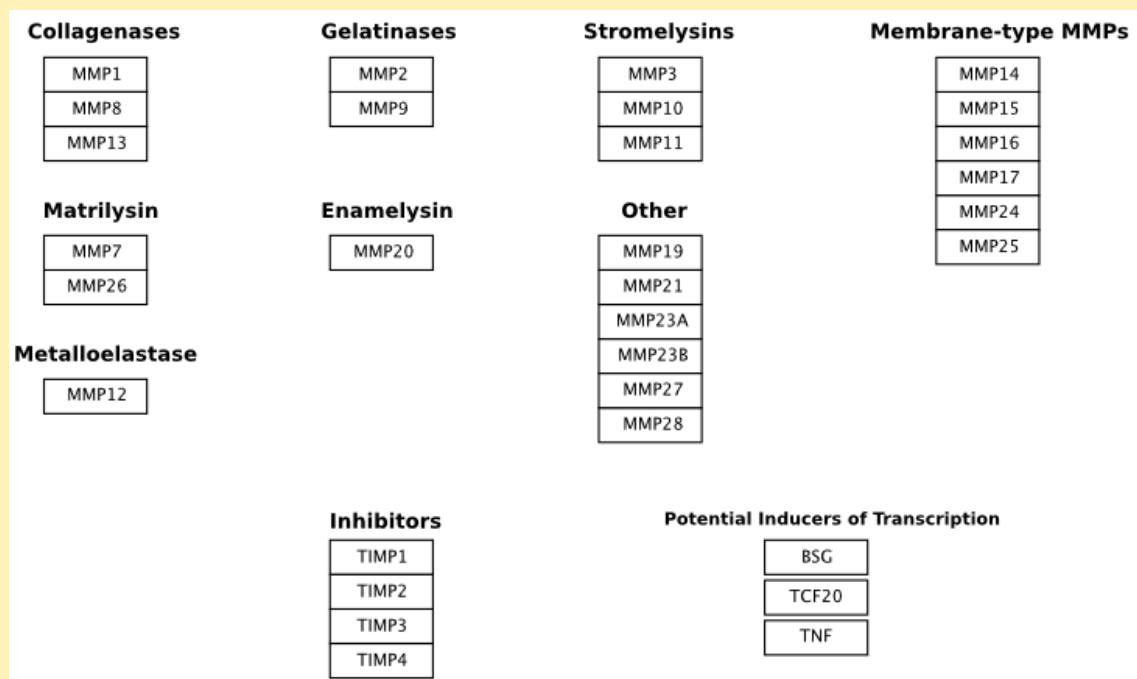
probablemente desempeñan un papel importante en la remodelación de la matriz (y posiblemente de la cicatriz)

Por otra parte, Salo et Al evaluaron una serie de heridas agudas experimentales en la mucosa oral, que demuestra que la MMP-2 se mantuvo estable durante la cicatrización de heridas, mientras que la MMP-9 alcanzó su punto máximo entre los días 2 y 4. Su hipótesis es que la MMP-9 fue no sólo producida durante la inflamación sino quizá también jugó un papel más adelante en la curación y fue segregada por los keratinocitos. En esencia, la MMP-9 podían participar en varias áreas clave de la curación de la herida, es decir, separado los keratinocitos anclados en la membrana basal y en la remodelación de la matriz extracelular, lo que podría permitir una más eficiente migración celular.

Por el contrario, Makela et al. evaluaron cultivos de células de las heridas y se encontró que los keratinocitos seguían creciendo y migrando cuando componentes heterocíclicos derivados del carbonato inhibieron a la MMP-9. Cuando MMP-2 fue inhibida por análogos de la tetraciclina, se produjo una reducción drástica en la tasa decrecimiento de los queratinocitos. Estos autores plantearon la hipótesis de que MMP-2 juega un papel clave en el desprendimiento y la promoción de la migración de keratinocitos a lo largo de la matriz extracelular.

Claramente, esta es un área compleja donde las diferencias en el modelado de la herida y las características específicas del cultivo pueden alterar dramáticamente los resultados, creando así conclusiones potencialmente conflictivas.

Matrix Metalloproteinases.



(Nota del T.: Cuadro tomado de otro estudio)

Estromelisininas.

(Stromelysins)

Debido a su amplia base de especificidad de sustrato, las estromelisininas (MMP-3, MMP-7, MMP-10, MMP-11, y MMP-12) juegan un papel diverso en la degradación de la matriz extracelular.

Esta clase de metaloproteinasas de la matriz se ha asociado con degradación de colágeno tipo IV, V, IX y X; elastina; fibronectina y ciertos proteoglicanos, de MMP-3 y MMP-10 puede escindir el colágeno tipo IV globular, pero no el colágeno tipo IV hélice.

Esta forma se encuentra en la membrana basal de los vasos sanguíneos. En comparación con otros miembros de su familia, MMP-7 muestra una alta afinidad a la elastina y también para entactina, una proteína que puentea el colágeno de la membrana basal y a la laminina.

Si bien la literatura médica está repleta de informes detallando las características estructurales y, en cierta medida, las propiedades funcionales de las estromelisininas, hay poca investigación sobre la actividad específica temporal de estas enzimas en la cicatrización de la herida normal humana. En un estudio longitudinal de las quemaduras, Young y Grinnell¹⁷ indica que la MMP-3 alcanzó su nivel máximo algunos momentos a partir del día 4°. En un modelo de la herida excisional, Arumugam et al encontraron que la MMP-3 sólo se observó el día 6, que coinciden directamente con el inicio de la contracción de la herida. Por lo tanto, la hipótesis de los autores que la secreción y la actividad posterior de MMP-3 puede desempeñar un papel en la disolución de coágulos durante este período de cicatrización de la herida normal, ya que estromelisininas tienen la actividad de la mayor parte de los materiales contenidos en el coágulo de la matriz.

Metaloproteinasas de la matriz tipo membrana

Si bien los miembros de esta clase de metaloproteinasas de la matriz (MMP-14, MMP-15, MMP-16, y MMP-17) tienen ciertas características únicas estructurales, lo que las diferencia de todas las de membranas de otros tipos de metaloproteinasas de la matriz es que no son secretadas en la matriz extracelular. Más bien, existe en las membranas celulares y parecen funcionar mediante la unión a otras metaloproteinasas de la matriz activándolas o ayudando a localizar su actividad en esa específica membrana.

Por ejemplo, la MMP-14 se ha asociado con la unión y activación de la MMP-2 gelatinasas y MMP-9. Además, la MMP-15 y MMP-16 también se unen a la gelatinasas, pero no parece ser así con la afinidad de la MMP-14.

Las MMP-18 y MMP-20.

Las MMP-18 y MMP 20 difieren suficientemente estructural y funcionalmente de otras clases de metaloproteinasas de la matriz para evitar incluirlas en cualquiera otra clase. La MMP-18 comparte 100% de homología con la MMP-19, por lo que se ha clasificado como la misma enzima.

La MMP-18 ha demostrado tener un mínimo de actividad en contra de una forma sintética designada como estromelisina substrate. Puede ser considerado desde el punto de vista funcional si bien no estructural, relacionada con la stromelysins. La función de

la MMP-20, sin embargo, parece estar aislada de la destrucción de proteínas del esmalte del diente durante el desarrollo.-

La activación y desactivación

La actividad de la Matrix metaloproteinasas parece estar controlada en tres niveles básicos.

- La primera es a nivel de genes por control transcripcional
- La segunda es a nivel molecular, al exigir los factores para convertir la forma proenzima a la forma activa.
- El tercer nivel es a través de inhibidores tisulares de las metaloproteinasas.

La Activación, que es regulada por los inhibidores tisulares de la los inhibidores de metaloproteinasas, y el papel de factores de crecimiento en la promoción y el retraso de la metaloproteinasas de la matriz, la secreción y su actividad, se analizan brevemente a continuación.

Las metaloproteinasas de la matriz son secretadas como proenzimas.

Para llegar a ser activas, estas estructuras requieren división del propéptido dominante Todas las metaloproteinasas de la matriz están unidas a la membrana de la célula o son secretadas en el plasma.

La inactividad de la matriz metaloproteinasas es mantenida por una interacción de la cisteína residual en el propéptido dominante, con el Ion zinc, el cual está unido al catalítico dominante. Van Wart et al identificó un posible modelo "interruptor de cisteína" para la activación de las metaloproteinasas de la matriz.

Este interruptor se activa cuando una enzima específica cliva una parte del propéptido dominante de la matriz metaloproteinasas. Una vez que el interruptor esté actuando, varios otros procesos se puede ocurrir dando como resultado finalmente una enzima activa. Tripsina, quimotripsina, plasma calicreína, plasmina, y algunos otras enzimas de neutrófilos se han implicado en este proceso.

Uno de los métodos más fácilmente observables de la regulación y la inactivación de las metaloproteinasas de la matriz es a través de inhibidores tisulares de las metaloproteinasas.

Los Inhibidores tisulares se unen a las metaloproteinasas de la matriz y forman complejos estables que son menos activos biológicamente contra la matriz extracelular.

Ostensiblemente, esto se logra oscureciendo o anulando la región catalítica de la enzima. También ejercen su efecto para inactivar las metaloproteinasas de la matriz por ralentización el proceso de activación.

Las metaloproteinasas de la matriz son inducidas por varios factores de crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento epidérmico, el factor de crecimiento derivado de plaquetas, la interleucina 1, y el factor de necrosis tumoral alpha. Esto se logra predominantemente a través de la inducción del gen. Mientras estos factores de crecimiento estimulan la producción de metaloproteinasas de la matriz, el factor de crecimiento transformante beta se ha demostrado que inhibe la producción de ciertas matriz metaloproteinasas través de la inhibición de la transcripción.

Algo parecido en cuanto a características similares inhibitorias se han identificado mediante el uso de retinoides y glucocorticoides.

Metaloproteinasas de la matriz en las heridas crónicas

Las heridas crónicas contienen alta actividad de la colagenasa.

En un estudio comparativo de heridas agudas y crónicas en los humanos, Nwomeh et al

encontraron diferencias claras en patrones de colagenasa entre estos grupos. Los Patrones de las colagenasas en la cicatrización de heridas indicaron que MMP-8 aparecía en cantidades significativamente mayores que MMP-1. *Las úlceras crónicas que no cicatrizan se caracterizaron por niveles significativamente más elevados tanto de MMP-1 y MMP-8, y por la disminución de los niveles del inhibidor tisular de metaloproteinasa 1 (TIMP-1)*, en comparación con heridas que si cicatrizan.

Los niveles de MMP-1 y MMP-8 varían en gran medida en las úlceras crónicas, a pesar de que MMP-8 fue siempre la colagenasa predominante presente en estas heridas. En este estudio, estuvieron presentes colagenasas casi exclusivamente en sus formas inactivas en las heridas que curaban, mientras que las úlceras que no sanaban poseía importantes niveles de las formas activas de estas enzimas.

Sin embargo, en un estudio separado de heridas crónicas de la pierna que curaban y las que no sanan, Harris et al no encontraron estadísticamente diferencias significativas en la actividad de la colagenasa entre heridas que se curaron y aquellas que no.

Al revisar los resultados de ambos estudios, se puede postular con cierta seguridad que la colagenasa MMP8 de los neutrófilos, es la colagenasa predominante presente en la cicatrización de heridas normales y que la sobre-formación y la activación de esta colagenasa pueden estar implicada en la patogénesis de las úlceras crónicas que no sanan. Además, el exceso de actividad colagenolítica en las úlceras crónicas ha sido posible en parte por la reducción de los niveles del inhibidor TIMP-1.

Hasta hace poco, no ha habido estudios que evalúen los niveles de actividad de la metaloproteinasa de la matriz en crónica heridas del pie diabético. En un estudio de la muestras con biopsia procedentes de úlceras del pie diabético, úlceras en las piernas venosas, de piel sana, y la piel de pacientes con diabetes, Jude et al encontraron producción intensa de MMP-8 y TIMP-2 en todas las heridas crónicas, y la MMP-9 resultó ser particularmente fuerte en heridas venosas.

Las MMP-1 y MMP-8 se producían en condiciones piel normal, y en las células epidérmicas de piel diabética sin inhibidores tisulares de metaloproteinasa señalados por la tinción en la piel no lesionada. Los investigadores concluyeron que la matriz metaloproteinasa y la secreción del inhibidor tisular de la metaloproteinasa aparecen elevados en heridas crónica.

Además, pueden desempeñar un papel en la determinación de la cronicidad de estas heridas. Lobman et al reportaron hallazgos similares que indican que las úlceras del pie diabéticos muestran incremento en la expresión de gelatinasa (MMP-2) en comparación con heridas traumáticas.

Si bien varias modalidades avanzadas de cicatrización de heridas, tales como factores de crecimiento exógenos y bioingeniería tisular tienen gran potencial en el tratamiento de las enfermedades crónicas de heridas, la propia naturaleza del entorno de la herida crónica puede ser hostil a la actividad óptima de estos los tratamientos.

Trengove et al identificaron una forma significativamente de mayor degradación del factor de crecimiento epidérmico en heridas crónicas y encontraron que el líquido de heridas crónicas tenían 30 veces mayor actividad de las metaloproteinasas de la matriz en comparación con el líquido en heridas agudas.

La inhibición excesiva en la formación de la proteasa en estas heridas puede permitir un estudio prospectivo del tratamiento en la cicatrización de heridas, si se trata de un factor de crecimiento individual o toda una bioingeniería de la matriz, para alcanzar su pleno potencial terapéutico.

Conclusión

La estructura, clasificación, función y regulación de las metaloproteinasas de la matriz han sido discutidas brevemente.

Su papel en la herida normal y en anormal curación no está bien caracterizado. Sin embargo, cualquier variación desde la delicadamente orquestada secuencia de eventos que tiene lugar durante el normal mantenimiento de la matriz extracelular pueden dar lugar a una gran cantidad de indeseables resultados. Mejorar los conocimientos básicos de esta área, sin duda, le ayudarán al clínico para identificar mejor los mecanismos implicados en la cicatrización de heridas y de ese modo para intervenir de forma proactiva para impedir que la normal herida se vuelva crónica.

En última instancia, esto evitará la innecesariamente elevada prevalencia de la morbilidad asociada a este significativo problema de salud pública

-----00000-----