

Las metaloproteasas como dianas terapéuticas en enfermedades reumatólogicas

C. López-Otín

Departamento de Bioquímica. Instituto Universitario de Oncología. Universidad de Oviedo. Oviedo. España.

Las enfermedades reumatólogicas van acompañadas de una importante destrucción tisular, que a su vez es responsable de muchas de las manifestaciones clínicas que surgen en los pacientes que sufren dichos procesos patológicos. Dado que las proteasas son enzimas cuya función clásica en el catabolismo proteico está muy bien definida, no es extraño que en los últimos años se hayan multiplicado los estudios dirigidos a valorar su implicación en el desarrollo de las distintas enfermedades de origen articular. El universo proteolítico humano es realmente complejo. De acuerdo con nuestros análisis más recientes¹, el genoma humano contiene más de 500 genes codificantes de proteasas, que pueden agruparse en 5 clases en función del mecanismo de catálisis: aspartil-proteasas, cisteína-proteasas, serina-proteasas, treonina-proteasas y metaloproteasas. Entre todas ellas, las denominadas metaloproteasas de matriz extracelular (MMP), han recibido la máxima atención en relación a su posible implicación en los procesos reumáticos. Las MMP constituyen una familia de proteasas dependientes de zinc, capaces de degradar los componentes proteicos mayoritarios de la matriz extracelular². Esta familia proteica presenta un notable éxito evolutivo, ya que poseemos un total de 24 genes codificantes de MMP en nuestro genoma. Todas ellas presentan un diseño estructural común en torno a un dominio catalítico que incorpora un predominio con un residuo de cisteína implicado en el mantenimiento de la latencia enzimática, una secuencia señal para dirigir estas proteasas a la ruta de secreción, y un dominio hemopexina que modula las interacciones con los sustratos y con los inhibidores endógenos, los denominados TIMP (inhibidores tisulares de metaloproteasas). Sin embargo, más allá de esta organización estructural común a las MMP, se pue-

den distinguir entre ellas notables variaciones estructurales y funcionales, que permiten su clasificación en 6 subfamilias distintas: colagenasas, estromalisininas, gelatinasas, MT-MMP, matriplisininas y otras MMP, muchas de las cuales se han relacionado con la enfermedad articular.

Los primeros estudios conectando las MMP con las enfermedades reumatólogicas datan de finales de los años sesenta, cuando Stephen Krane demostró la presencia de una notable actividad colagenolítica en extractos tisulares de pacientes con artritis reumatoide³. Tras estas observaciones pioneras, numerosos trabajos confirmaron y extendieron la idea de que distintas MMP se sobreexpresaban, a veces de forma espectacular, en la práctica totalidad de las enfermedades reumatólogicas^{4,5}. Sin embargo, estas observaciones correlativas no son suficientes para adscribir un papel central a una determinada proteasa en el conjunto de los mecanismos moleculares subyacentes al desarrollo de estas enfermedades. Se impone, por tanto, la necesidad de recorrer el camino que separa una correlación de una relación causal, y para ello, recientemente, se ha desarrollado una serie de modelos animales que nos han proporcionado una nueva visión del problema. Estos modelos son fundamentalmente de dos tipos: ratones transgénicos que sobreexpresan MMP humanas en el tejido articular, y ratones *knockout* deficientes en una determinada MMP. Con los primeros se pretende examinar la hipótesis de que la sobreexpresión de una determinada MMP puede ser suficiente para el desarrollo de ciertas enfermedades reumatólogicas. Hay al menos un caso en el que dicha hipótesis se ha demostrado de manera muy evidente. Así, la sobreexpresión de colagenasa-3 (MMP-13) humana en cartílago articular de ratones, provoca una serie de alteraciones muy semejantes a las que acontecen durante el desarrollo de artrosis en humanos⁶. Estos resultados representan un avance muy importante en el conocimiento de los mecanismos moleculares asociados al desarrollo de los procesos artríticos, pero además proporcionan un modelo válido para el ensayo de fármacos capaces de bloquear la actividad de la colagenasa-3, que puedan ser trasladados posteriormente a la práctica clínica.

Correspondencia: Dr. C. López-Otín.
Departamento de Bioquímica.
Instituto Universitario de Oncología.
Universidad de Oviedo. Argüelles, 39, 2.º. 33003 Oviedo.
España.
Correo electrónico: clo@correo.uniovi.es

Manuscrito recibido el 20-12-2002 y aceptado el 10-1-2003.

Los experimentos basados en la generación de modelos murinos deficientes en proteasas específicas pretenden afrontar el problema desde una perspectiva opuesta y examinar la hipótesis de que la ausencia de proteasas específicas puede ser suficiente para dificultar la progresión de las enfermedades reumatólogicas. Los resultados de estos experimentos han sido sin duda informativos, pero en algunos casos sorprendentes, pues han proporcionado conclusiones completamente inesperadas. Los primeros trabajos realizados en esta línea estuvieron basados en el empleo de ratones deficientes en estromalisina-1 (MMP-3), una de las primeras proteasas asociadas a los procesos artíticos, y también una de las más ampliamente estudiadas en este sentido. De acuerdo con estos estudios, los animales deficientes en MMP-3 carecen de algunas de las lesiones características que aparecen tras la inducción experimental de artritis⁷. Muy recientemente, se han publicado los resultados de experimentos semejantes llevados a cabo en ratones deficientes en gelatinasa A (MMP-2) y gelatinasa B (MMP-9)⁸. Estos últimos ratones mutantes muestran una menor susceptibilidad al desarrollo de artritis inducida por anticuerpos anticolágeno tipo II, validando la hipótesis de que la ausencia de proteasas específicas de esta familia puede dificultar la progresión de dichas enfermedades. Sin embargo, experimentos análogos con ratones deficientes en MMP-2 no sólo no muestran menor susceptibilidad de desarrollar artritis, sino que, aparentemente, sufren formas más graves de esta enfermedad⁸. También hay que señalar que ratones deficientes en MT1-MMP desarrollan múltiples alteraciones patológicas, incluyendo artritis⁹. En resumen, los resultados de los distintos modelos animales de ganancia y pérdida de función de MMP han proporcionado dos importantes conclusiones. En primer lugar, han confirmado el papel central de algunos componentes de esta familia de proteasas, como la colagenasa-3, la estromalisina-1 y la gelatinasa B, en la patogénesis de las enfermedades reumatólogicas. Sin embargo, en otros casos, los resultados obtenidos no parecen avalar las predicciones previas basadas en la mera sobreexpresión de estas proteasas, que sugerían que la práctica totalidad de los componentes de esta familia están implicados en el desarrollo de enfermedades reumatólogicas. Estos hechos tienen una indudable relevancia clínica en la evaluación de estas proteasas como dianas terapéuticas en dichas enfermedades. Así, en fechas recientes, y tras los numerosos trabajos que demuestran la asociación de MMP con múltiples enfermedades, la industria farmacéutica ha realizado un extraordinario esfuerzo dirigido al diseño y la síntesis de inhibidores capaces de bloquear la actividad de estas proteasas en dichas enfermedades, incluyendo las de origen reumatólgico. La mayor parte de los ensayos clínicos se ha centrado en pacientes oncológi-

cos, y con la excepción de un reciente y esperanzador estudio con el inhibidor denominado marimastato en pacientes con cáncer gástrico, los resultados han sido negativos¹⁰. De manera retrospectiva podemos señalar que tal vez el fracaso de la mayoría de estos ensayos clínicos podría haberse anticipado, ya que se iniciaron cuando el conocimiento molecular de la familia de las MMP era muy limitado. En cualquier caso, de estos estudios negativos podemos extraer conclusiones que pueden ser muy útiles para la futura realización de ensayos análogos en enfermos reumáticos.

Así, en primer lugar hay que considerar que es prioritaria la definición de las proteasas que queremos inactivar en cada situación particular. Ello resulta muy evidente a la luz de los resultados con modelos experimentales de artritis, que demuestran que algunas MMP pueden desempeñar papeles protectores en el desarrollo de enfermedades articulares, siendo su sobreexpresión durante el curso de las mismas, un reflejo de esas funciones positivas todavía poco conocidas. Obviamente, dada la diversidad de miembros de esta familia, la identificación de las proteasas diana en cada situación particular es un problema difícil de abordar. A ello se suma, además, el hecho de que las MMP sólo representan una de las varias familias de proteasas asociadas al desarrollo de las enfermedades reumatólogicas. Así, no debemos olvidar la importancia creciente de otro grupo de metaloproteasas denominadas ADAMTS (*A Disintegrin And Metalloproteinase with ThromboSpondin domains*)¹¹, entre las que se encuentran las aggrecanasas-1 y 2 (ADAMTS-4 y 5) implicadas en la destrucción de proteoglicanos que acompaña a dichas enfermedades reumáticas¹². Otras proteasas lisosomales, y especialmente la catepsina K, también pueden participar en los procesos de degradación tisular asociados a estas enfermedades¹³. Como aproximación teórica al análisis global de las proteasas asociadas a una determinada condición, hemos introducido el concepto de «degradoma», que trata de definir el conjunto total de proteasas producidas por una célula, tejido u organismo en un determinado momento o circunstancia¹. Estas ideas pueden extenderse al caso concreto de las enfermedades articulares y, a través del empleo de chips específicos de proteasas, podemos llegar a definir el perfil proteolítico de cada condición patológica y en cada paciente.

Otro de los aspectos deficientes de los primeros ensayos clínicos dirigidos a bloquear las MMP en distintas enfermedades, deriva del hecho de que los inhibidores utilizados tenían un amplio espectro de actuación y eran capaces de inhibir proteasas que, tal como hemos señalado, pueden desempeñar funciones positivas para el paciente. Para intentar solucionar este problema, es necesario el diseño de nuevos inhibidores más selectivos y con

mejores propiedades farmacológicas, para ello resulta esencial la disponibilidad de las estructuras tridimensionales de las distintas MMP. Hasta el momento, sólo se ha resuelto la estructura completa de la gelatinasa-A, aunque también se conocen las estructuras parciales de otros miembros de la familia¹⁴. Por tanto, parece evidente que éste es un terreno que necesita todavía una amplia exploración, pero que indudablemente conducirá al hallazgo de una nueva serie de compuestos más eficaces para el bloqueo de MMP específicas sobreexpresadas en las distintas enfermedades reumatólogicas. Finalmente, debemos considerar que la práctica totalidad de las estrategias centradas en intentar bloquear la acción de las MMP ha estado dirigida a inhibir las formas activas de estas enzimas. Sin embargo, no debemos olvidar que estas proteasas están sometidas a múltiples mecanismos de regulación, incluidos los que acontecen durante las etapas de síntesis, secreción y activación de sus precursores inactivos, y todos ellos son susceptibles de intervención terapéutica^{4,15}. La posibilidad de desarrollar tratamientos eficaces para los procesos artríticos basados en el bloqueo de estas etapas adicionales de regulación de las MMP se ha visto apoyada por los resultados derivados de las nuevas terapias capaces de bloquear las rutas mediadas por el factor de necrosis tumoral TNF- α . En efecto, el hecho de que este factor posea la capacidad de inducir la expresión de distintas MMP permite sugerir que parte del beneficio terapéutico de compuestos como el infliximab o el etanercept, que afectan a las rutas de señalización iniciadas por el TNF- α , deriva de sus efectos sobre la expresión de estas proteasas. Estudios dirigidos a cuantificar las concentraciones de MMP en pacientes sometidos a dichos tratamientos han corroborado esta posibilidad, demostrando una reducción sustancial en las concentraciones de MMP circulantes¹⁶. Sin duda, estos resultados abren nuevas posibilidades dirigidas a bloquear la función de las MMP en alguna de las etapas de su ciclo bioquímico previas a la generación de las formas activas de dichas proteínas^{4,15}.

En resumen, la sobreexpresión de numerosas MMP en enfermedades articulares y el establecimiento de relaciones causales entre dicha sobreexpresión y el desarrollo de las citadas enfermedades, permite concluir que estas metaloproteasas son dianas terapéuticas importantes en reumatología. Sin embargo, todavía hay que aclarar múltiples aspectos relacionados con la estructura, la función y la regulación de estas proteasas, de manera que se pueda explorar las diversas oportunidades de bloquear su acción, más allá de la exclusiva inhibición de sus formas activas. Otro aspecto de creciente interés deriva de la posible caracterización de polimorfismos en los genes de MMP que pueden afectar a la tasa de expresión o actividad enzimática de estas

proteasas y asociarse con la mayor o menor susceptibilidad al desarrollo de enfermedades articulares. Asimismo, será necesario clarificar las conexiones moleculares de las MMP con otros sistemas proteolíticos como el de las ADAMTS, que durante la progresión de las enfermedades articulares pueden desempeñar funciones análogas o complementarias a las de las MMP. Desde el punto de vista clínico, la introducción de aproximaciones basadas en tecnologías «degradómicas»¹ contribuirá a definir las proteasas específicas que deben ser inhibidas en cada caso concreto. Estas aproximaciones también pueden resultar útiles para evaluar el interés de la cuantificación de las MMP como marcadores bioquímicos de desarrollo, progresión y respuesta terapéutica en enfermedades articulares. En conjunto, este mayor conocimiento sobre la familia de MMP puede dar lugar al desarrollo de nuevos fármacos que, en combinación con los dirigidos frente a otras dianas terapéuticas, contribuyan a ofrecer respuestas adicionales a enfermedades de creciente importancia científica, social y económica.

Bibliografía

1. López-Otín C, Overall CM. Protease degradomics, a challenge for proteomics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:509-19.
2. Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3:207-14.
3. Evanson JM, Jeffrey JJ, Krane SM. Human collagenase: identification and characterization of an enzyme from rheumatoid synovium in culture. *Science* 1967;158:499-502.
4. Mengshol JA, Mix KS, Brinckerhoff CE. Matrix metalloproteinases as therapeutic targets in arthritic diseases: bull's-eye or missing the mark? *Arthritis Rheum* 2002;46:13-20.
5. Konttinen YT, Ainola M, Valleala H, Ma J, Ida H, Mandelin J, et al. Analysis of 16 different matrix metalloproteinases (MMP-1 to MMP-20) in the synovial membrane: different profiles in trauma and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1999;58:691-7.
6. Neuhold LA, Killar L, Zhao W, Sung ML, Warner L, Kulik J, et al. Postnatal expression in hyaline cartilage of constitutively active human collagenase-3 (MMP-13) induces osteoarthritis in mice. *J Clin Invest* 2001;107:35-44.
7. Van Meurs J, van Lent P, Holthuysen A, Lambrou D, Bayne E, Singer I, et al. Active matrix metalloproteinases are present in cartilage during immune complex-mediated arthritis: a pivotal role for stromelysin-1 in cartilage destruction. *J Immunol* 1999;163:5633-99.
8. Itoh T, Matsuda H, Tanioka M, Kuwabara K, Itohara S, Suzuki R. The role of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in antibody-induced arthritis. *J Immunol* 2002;169:2643-7.
9. Holmbeck K, Bianco P, Caterina J, Yamada S, Kromer M, Kuznetsov SA, et al. MT1-MMP-deficient mice develop dwarfism, osteopenia, arthritis, and connective tissue disease due to inadequate collagen turnover. *Cell* 1999;99:81-92.
10. Bramhall SR, Hallissey MT, Whiting J, Scholefield J, Tierney G, Stuart RC, et al. Marimastat as maintenance therapy for patients with advanced gastric cancer: a randomised trial. *Br J Cancer* 2002;86:1864-70.

11. Cal S, Obaya AJ, Llamazares M, Garabaya C, Quesada V, López-Otín C. Cloning, expression analysis, and structural characterization of seven novel human ADAMTs, a family of metalloproteinases with disintegrin and thrombospondin-1 domains. *Gene* 2002;283:49-62.
12. Malfait AM, Liu RQ, Ijiri K, Komiya S, Tortorella MD. Inhibition of ADAM-TS4 and ADAM-TS5 prevents aggrecan degradation in osteoarthritic cartilage. *J Biol Chem* 2002;277: 22201-8.
13. Konttinen YT, Mandelin J, Li TF, Salo J, Lassus J, Liljestrom M, et al. Acidic cysteine endopeptidase cathepsin K in the degeneration of the superficial articular hyaline cartilage in osteoarthritis. *Arthritis Rheum* 2002;46:953-60.
14. Morgunova E, Tuuttila A, Bergmann U, Tryggvason K. Structural insight into the complex formation of latent matrix metalloproteinase 2 with tissue inhibitor of metalloproteinase 2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:7414-9.
15. Overall CM, López-Otín C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. *Nature Rev Cancer* 2002;2:2657-72.
16. Catrina AI, Lampa J, Ernestam S, af Klint E, Bratt J, Klareskog L, et al. Anti-tumour necrosis factor (TNF)-alpha therapy (etanercept) down-regulates serum matrix metalloproteinase (MMP)-3 and MMP-1 in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 2002;41:484-9.