

Metaloproteinasas, matriz extracelular y cáncer

María Cascales Angosto^{*}, Juan Ángel Álvarez-Gómez

Recibido el 28 de septiembre de 2009.

RESUMEN

Las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP) están implicadas en procesos fisiológicos y patológicos e intervienen en la rotura de la matriz extracelular (ECM). Las MMP constituyen una familia de endopeptidasas neutras dependientes de zinc, capaces de degradar los componentes esenciales de la matriz. Los inhibidores tisulares endógenos de las MMP (TIMP), una clase de inhibidores de las MMP, reducen la degradación proteolítica excesiva de la ECM. La degradación de la ECM es crucial para el crecimiento tumoral maligno, invasión, metástasis y angiogénesis. Se han descrito cambios en las MMP y sus inhibidores durante la carcinogénesis y también que unas y otros regulan las vías señalizadoras mediante la rotura de otros sustratos que los de la matriz, tales como citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento. Como ciertas MMP limitan el crecimiento tumoral, su identificación e intervención terapéutica en combinación con la quimioterapia convencional ha de proporcionar un medio para la terapia del cáncer.

Palabras clave: Metaloproteinasas; Matriz Extracelular; Cáncer; Metástasis; Terapia anti-cáncer.

ABSTRACT

Metalloproteinases, extracellular matrix and cancer

The extracellular matrix metalloproteinases (MMP) are involved in physiological and pathological processes, through the cleavage of extracellular matrix (ECM) and non-matrix substrates. MMP are a family of zinc-dependent neutral endopeptidases capable of degrading essentially all matrix components. Endogenous tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP), one kind of MMP inhibitors, reduce the excessive proteolytic ECM degradation. Degradation of ECM is crucial for malignant tumor growth, invasion, metastasis and angiogenesis. A variety of reports describe the correlated changes in MMP and TIMP during the formation of cancer, and also that MMP and TIMP may act as regulators of signaling pathways through the cleavage of non-matrix substrates, including cytokines, chemokines, and growth factors. As certain MMP limit tumor growth, identification of proper MMP in combination with conventional chemotherapy is expected to provide a feasible approach for cancer therapy.

Keywords: Metalloproteinases; Extracellular matrix; Cancer; Metastasis; Anti-cancer therapy.

1. INTRODUCCIÓN

La matriz extracelular (ECM) 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 ECM (MMP), cuya misión es degradar las proteínas integrantes de dicha ECM en su medioambiente inmediato y activar factores de crecimiento, receptores de superficie y moléculas de adhesión. La interacción de la célula con la ECM desencadena cascadas de señalización que promueven la diferenciación, migración y movilización celular, esenciales para el mantenimiento de la homeostasis (1-5).

Gross y Lapiere (6) demostraron en 1962 la existencia de enzimas difusibles que degradaban geles de colágeno fibrilar nativo. Desde

entonces se han ido identificando las MMP, que se caracterizan por depender del Zn^{+2} para su actividad catalítica, por su potente capacidad para degradar proteínas estructurales de la ECM y por su secuencia evolutiva específica (7). Las MMP son proteasas extracelulares requeridas en numerosos procesos relacionados con el desarrollo, la regeneración y la enfermedad (8). La degradación de proteínas extracelulares es esencial para que cualquier célula individual pueda interactuar con su ambiente circundante y para que los organismos multicelulares funcionen y se desarrollen. Las MMP también degradan moléculas de la superficie celular y otras proteínas pericelulares, reguladoras del comportamiento celular en diversas vías.

Al poseer capacidad de alterar el destino celular e intervenir en el desarrollo, las MMP están sometidas a un estricto control. Fue en 1971 (9) cuando se demostró que las MMP se sintetizaban como zimógenos inactivos que requerían ser activados por proteólisis y también la existencia de inhibidores titulares (TIMP) de su actividad (10). Desde entonces se han descubierto muchas características de estas proteasas, desde la transcripción de activadores e inhibidores endógenos de su actividad catalítica, a factores que influyen su secreción, localización en la superficie celular y su propia degradación y eliminación.

2. FAMILIA DE LAS METALOPROTEINASAS. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN

Se han descrito 25 miembros de la familia MMP, que se clasifican en cinco subfamilias: colagenasas, gelatinasas, estromelinas, metaloproteasas de membrana (MT-MMP) y otras MMP (11, 12). Todas ellas difieren en su estructura y especificidad de sustrato, pero su acción combinada es capaz de conducir a la degradación de la práctica totalidad de los componentes macromoleculares de la ECM. Este hecho, junto con su capacidad de actuar a pH fisiológico, convierte a estas enzimas en candidatos que participan en la destrucción tisular que acompaña al cáncer. Los primeros estudios fueron los realizados por Liotta *et al.* (13), quienes detectaron la presencia de potentes actividades colagenolíticas en tumores epiteliales y mesenquimales, y observaron que las células metastásicas de un carci-

noma murino tenían mayor capacidad para degradar el colágeno que las células del tumor primario. También describieron la producción de colagenasas por líneas celulares de osteosarcomas y carcinomas mamarios humanos, cuya actividad se inhibía por una proteína de cartílago, tejido raramente invadido por las células neoplásicas. Estos estudios aportaron las primeras pruebas de interés terapéutico para el bloqueo de la diseminación tumoral. Desde ese momento, numerosos estudios abordaron la identificación estructural y funcional de las diferentes MMP responsables de las actividades proteolíticas detectadas durante la progresión tumoral. Los resultados obtenidos permitieron concluir que el problema era más complejo de lo esperado y que el número de proteasas asociadas al cáncer era mucho mayor que el previsto. Así, la práctica totalidad de las MMP descritas hasta el momento, se han asociado directa o indirectamente a los procesos tumorales, aunque son las gelatinasas A y B, las estromelisin-1 y -3, las colagenasas-1 y -3 y la MT1-MMP, las que parecen estar más involucradas en la progresión tumoral. No hay que olvidar que proteasas pertenecientes a otros tipos catalíticos, como las activadoras del plasminógeno o las catepsinas, y las heparanasas, cooperan con las MMP en el proceso de invasión y metástasis (14). En cualquier caso, y a la luz de los conocimientos actuales, se puede decir que no hay ninguna proteasa que sea responsable por sí sola de las propiedades invasivas y metastásicas de los distintos tipos de tumores. Los tumores utilizan distintas proteasas o combinaciones de ellas, como instrumentos imprescindibles en su aventura colonizadora de otros territorios corporales (14).

En un primer momento, las 25 diferentes MMP codificadas por sus respectivos genes, se clasificaron en función de la especificidad del sustrato (colagenasas, gelatinasas, estromelisin-1 y -3 y matrilisinas) (8, 9), pero actualmente la clasificación 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 une 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*) (8) (Tabla 1 y Figura 1). Así, en la clasificación se distinguen ocho grupos estruc-

turales: cinco de MMP secretadas y tres MT-MMP. Muchos de los eventos señalizadores extracelulares ocurren en o cerca de la membrana celular y se regulan por hidrólisis pericelular. 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.

De los 25 homólogos de las MMP identificados en vertebrados, 22 de ellos corresponden a humanos. Cada MMP posee una secuencia señalizadora N-terminal o *predominio*, un propeptido o *prodominio* que mantiene al enzima latente hasta que se elimina por proteólisis, y un *dominio catalítico* que contiene la región conservada de unión al Zn^{2+} . El dominio catalítico indica la especificidad del sitio de rotura mediante huecos de especificidad que se unen a residuos de aminoácidos adyacentes. Con excepción de la MMP7 (matrilisina), MMP26 (endometasa/matrilisina 2) y MMP23, las restantes MMP poseen un dominio hemopexina conectado con el dominio catalítico por una bisagra o región de unión H. Las MMP7 y MMP26 carecen de estos dominios, mientras que la MMP23 posee, en lugar del dominio hemopexina, un dominio rico en cisteína/prolina y otro dominio del tipo del receptor de la IL-1. El dominio hemopexina, cuando está presente, ejerce influencia sobre la unión al TIMP, a ciertos sustratos y a algunas actividades proteolíticas. La actividad colagenolítica requiere la unión y orientación de la fibrilla de colágeno, el desenrolamiento local de su estructura helicoidal triple y la rotura secuencial de la cadena, porque la hendidura catalítica es demasiado estrecha para acomodarse a la hélice triple completa. La región bisagra es variable en longitud y composición entre las varias MMP y ejerce influencia también en la especificidad del sustrato. Las MMP2 y MMP9 (gelatinasas A y B), se distinguen por la inserción de tres repeticiones ricas en cisteína en el dominio catalítico. Estos insertos se parecen a las repeticiones de unión al colágeno tipo II de la fibronectina y se requieren para unirse y romper colágeno y elastina. Por último, las MMP tipo membrana (MT-MMP), tienen un dominio transmembrana sencillo, un corto dominio C-terminal citoplasmático (MMP 14, 15, 16 y 24) y una región C-terminal hidrofóbica glicosfosfatidilinositol (GPI), que actúa como señal de anclaje a la membrana. Estos dominios juegan un papel esencial en la localización de

diversos eventos proteolíticos en regiones específicas de la superficie celular (Figura 1).

Tabla 1. **Metaloproteinasas de vertebrados** (8).

MMP	Nombre común	Organización de dominios*
MMP1	Colagenasa-1	B
MMP2	Gelatinasa A	C
MMP3	Estromelisina-1	B
MMP7	Matrilisin	A
MMP8	Colagenasa-2	B
MMP9	Gelatinasa B	C
MMP10	Estromelisina-2	B
MMP11	Estromelisina-3	D
MMP12	Macrófago metaloelastasa	B
MMP13	Colagenasa-3	B
MMP14	MT1-MMP	E
MMP15	MT2-MMP	E
MMP16	MT3-MMP	E
MMP17	MT4-MMP	F
MMP18	Colagensa-4 (<i>Xenopus</i>)	B
MMP19	RASI-1	B
MMP20	Enamelisin	B
MMP21	SMMP (<i>Xenopus</i>)	G
MMP22	CMMP (pollo)	B
MMP23	—	H
MMP24	MT5-MMP	E
MMP25	MT6-MMP	F
MMP26	Endometasa Matrilisin-2	A
MMP27	—	B
MMP28	Epilisin	D

* Ver Figura 1 para la disposición de los dominios.

La familia *ADAM* (*desintegrina* y *metaloproteinasa*) comprende proteínas multifuncionales de membrana, similares a las metaloproteinasas del veneno de serpientes. En su estructura muestran una organización de dominios compleja que consiste en una secuencia señalizadora, dominio metaloproteinasa, dominio tipo desintegrina,

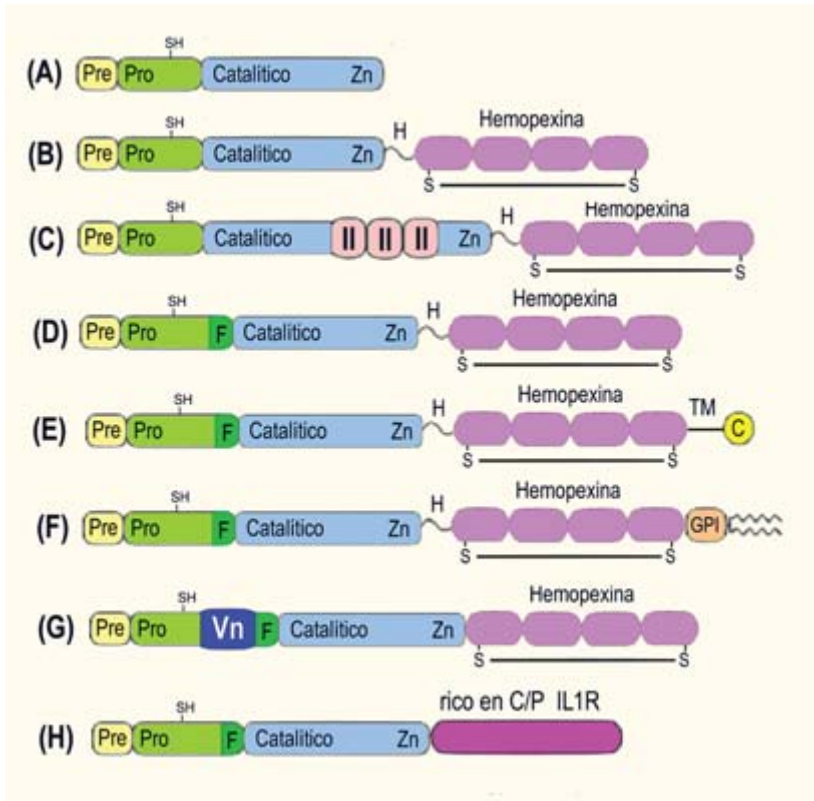


Figura 1. Estructura de las MMP. (A) Dominios mínimos de las MMP (MMP7/ matrilisina, MMP26/endometasa). (B) MMP que contienen sólo un dominio hemopexina (MMP1/colagenasa1, MMP8/colagenasa 2, MMP13/colagenasa 3, MMP18/ colagenasa 4, MMP3/estromelisina 1, MMP10/ estromelisina 2, MMP12/metaloelastasa, MMP19/RASI 1, MMP20/enamelisina, MMP22/CMMP, MMP27). (C) MMP que se unen a gelatina (MMP2/gelatinasa A, MMP9/gelatinasa B). (D) MMP secretadas activadas por furina (MMP11/estromelisina 3, MMP28/epilisina). (E) MMP transmembrana (MMP14/MT1-MMP, MMP15/MT2-MMP, MMP16/MT3-MMP, MMP24/MT5-MMP). (F) MMP ligadas a GPI (MMP17/MT4-MMP, MMP25/MT6-MMP). (G) MMP con un dominio inserto similar a la vitronectina (MMP21/XMMP). (H) MMP con un dominio rico en cisteína/prolina receptor IL-1 (MPP23). Pre, secuencia señalizadora; Pro, propéptido con un zinc libre que se une al tiol (SH); F, sitio susceptible a la furina; Zn, sitio catalítico de unión al Zn; II, insertos de fibronectina que se unen al colágeno, H, región bisagra; TM, dominio transmembrana; C, cola citoplasmática; GPI dominio de anclaje del glicofosfatidil inositol; C/P, cisteína/prolina; IL-1R, receptor de la IL-1; Vn, dominio similar a la vitronectina. El dominio hemopexina contiene cuatro repeticiones con un enlace disulfuro entre la primera y la última (8).

región rica en cisteína, dominio tipo receptor del factor de crecimiento epidérmico, región transmembrana y dominio citoplasmático (15, 16). Se han descrito ya 25 ADAM en tejidos humanos y en un principio se asociaron a la espermatogénesis, unión y fusión del espermatozoide al huevo. Más tarde se implicaron en la neurogénesis, modulación de la migración y adhesión de las células tumorales, activación de vías señalizadoras y liberación de las citoquinas y factores de crecimiento unidos a membrana. Algunas ADAM se sobreexpresan en tumores malignos de origen diverso y su actividad se puede bloquear por inhibidores endógenos y sintéticos de las proteasas (MMPI). Las ADAMTS son proteasas relacionadas con ADAM que contienen varias repeticiones de trombospondina tipo I (TS) en su región C-terminal, pero carecen del dominio transmembrana presente en ADAM. Se han identificado 18 ADAMTS en tejidos humanos y se ha detectado que ejercen funciones específicas en procesos normales y patológicos (Figura 2).



Figura 2. Estructuras de una desintegrina y metaloproteínasa (ADAM) y de ADAM con motivos trombospondina (ADAMTS). Los miembros de la familia de genes ADAM se clasifican como subgrupos de miembros anclados (ADAM) y de tipo secretado (ADAMTS). CR, dominio rico en cisteína; CT, dominio citosólico; Dis, dominio desintegrina; E, dominio tipo factor de crecimiento epidérmico; MP, dominio metaloproteínasa; Pro, dominio propéptido; SP, dominio espaciador; TM, dominio transmembrana; TS, dominio trombospondina (15).

Las *proteína convertasas* son una familia de serina proteasas implicadas en el procesamiento endoproteolítico de la vía secretora. Entre sus sustratos están precursores de factores de crecimiento, neuropéptidos, hormonas peptídicas y otras proteasas. Las convertasas son también importantes en el procesamiento de las glucoproteínas de la envuelta de muchos retrovirus, entre ellas la del HIV. Las proteínas convertasas muestran una similitud en su secuencia

con la proteasa kex2 (quexina) de levadura, y con la serina proteasa subtilina de bacterias. Es por eso que estos enzimas se han denominado proproteína convertasas tipo subtilina (SPC), habiéndose identificado siete en tejidos humanos (SPC 1-7). Contienen una secuencia señalizadora, un propéptido aminoterminal, un dominio catalítico tipo subtilina y una región conservada de 150 aminoácidos denominada dominio «P» o dominio «homo B» que parece estabilizar el dominio catalítico. En el terminal carboxílico algunos miembros contienen una región rica en cisteína, un dominio transmembrana tipo I implicado en el anclaje a la superficie celular, y un dominio citoplasmático de longitud variable. Todas las SPC reconocen motivos dibásicos RXK/RR e hidrolizan el enlace peptídico al final de estos motivos. Entre las diversas SPC humanas, la furina (SPC1) es un enzima importante en oncología debido a su capacidad para participar en la activación de diferentes proteasas asociadas con tumores, MMP, ADAM y ADAMTS. La furina y los enzimas tipo furina se han encontrado sobreexpresados en tejidos malignos (17).

La Figura 3 resume la información obtenida sobre la implicación de las ADAM en el cáncer: 1. ADAM se sintetiza como proADAM inactivo y se activa por acción de la furina o de las MMP. 2. ADAM participa en la liberación de los factores de crecimiento TGF α y HB-EGF, y este proceso puede alterar la señalización en la superficie de las células cancerosas, lo que da lugar a una proliferación celular intensificada por mecanismos autocrinos y paracrinos. Además, la actividad proteolítica de ADAM puede ser regulada por señalización celular mediante las vías PKC y MAPK. 3. ADAM funciona como molécula de adhesión que se une a integrinas o sindecanos por su dominio desintegrina y su dominio rico en cisteína, que ayuda a la célula a digerir los sustratos. 4. ADAM regula indirectamente las señales de proliferación celular a través de las integrinas. 5. El papel de ADAM en el cáncer y en la metástasis se relaciona con su actividad proteínasa y con otras moléculas ancladas en la membrana, que pueden ser citoquinas, quimioquinas y sus receptores (15).

Al igual que las MMP, las ADAM pueden romper moléculas de la MEC y eso facilita que las células tumorales puedan invadir y adherirse a nuevos tejidos para establecer sitios secundarios de crecimiento. No obstante, existen aún muchas preguntas sin resolver respecto a la regulación y función de las ADAM. Experimentos con

ratones transgénicos que sobreexpresan ADAM, han de ayudar a determinar el papel de ADAM en la carcinogénesis y en la progresión del cáncer *in vivo*.

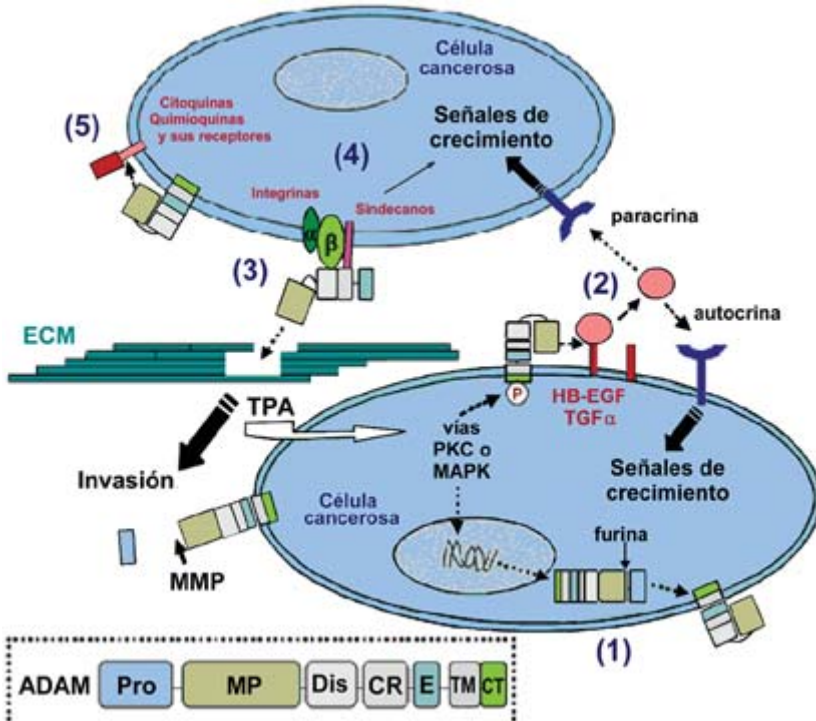


Figura 3. Vías mediadas por ADAM implicadas en la progresión del cáncer.

1. ProADAM se activa por la furina o las MMP. 2. La actividad de ADAM se estimula por factores externos, como el 12-O-tetradecanoil forbol-13-acetato (TPA), y libera ligandos de la superficie celular como el HP-EGF y el TGF α . En este proceso pueden intervenir la PKC y la MAPK. Los factores de crecimiento solubles, HP-EGF, activan al receptor del factor de crecimiento epidérmico de manera autocrina y paracrina. 3. La interacción del dominio desintegrina y el dominio rico en cisteína de ADAM con integrinas o síndecanos ayuda a romper sustratos de la ECM. 4. ADAM modula las interacciones ECM-integrina, que pueden indirectamente promover señales de proliferación mediante las integrinas. 5. ADAM procesa otras moléculas ancladas en la membrana, quimioquinas, citoquinas y sus receptores, que se relacionan con la proliferación y progresión del cáncer. CR, dominio rico en cisteína; CT, dominio citosólico; Dis, dominio desintegrina; E, dominio factor de crecimiento epidérmico; MP, dominio metaloproteinasas; Pro, dominio propéptido; TM, dominio transmembrana (15).

3. REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LAS METALOPROTEINASAS

La actividad proteolítica de las MMP se regula a tres niveles: transcripción, activación del proenzima e inactivación (Figura 4) (11, 12, 18). Otros mecanismos se encuentran también implicados: estabilidad del mRNA, eficiencia traduccional, compartimentación y secreción enzimática, reclutamiento en la membrana celular, selección de sustrato, su liberación, oligomerización, incorporación, internalización celular y finalmente autólisis. Estos mecanismos operan coordinadamente para asegurar que la expresión y actividad de las MMP se circunscriban a aquellos sitios y condiciones en los que es necesaria su actividad. Sin embargo, los tumores malignos han generado estrategias para evadir estos mecanismos reguladores lo cual conduce a la actividad proteolítica incontrolada que acompaña al cáncer, la invasión y la metástasis (16, 19).

3.1. Transcripción

La transcripción se regula de manera independiente y cada célula muestra un fenotipo proteolítico en respuesta a los estímulos. Existen varios mecanismos mediante los que las células regulan la transcripción de las MMP: regulación por citoquinas, señalización y factores nucleares y polimorfismos de un solo nucleótido (20).

3.1.1. Regulación por citoquinas

Muchas MMP no se expresan en condiciones normales, pero su transcripción puede ser inducida por citoquinas, factores de crecimiento y productos de oncogenes, que son liberados por el estroma, por las células infiltradas del sistema inmune o por las mismas células tumorales. Otras condiciones, tales como alteraciones en la forma celular o estrés mecánico, pueden también inducir la transcripción. Sin embargo, no se ha identificado ningún factor que sea responsable exclusivo de la sobreexpresión de las MMP en tumores, aunque se sabe que se encuentran implicados el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la interleuquina 1 (IL-1). La transcripción de

las MMP puede ser activada o reprimida por diferentes agentes, dependiendo del tipo de célula tumoral. Algunos factores como el factor transformante de crecimiento beta ($TGF\beta$) o los retinoides, funcionan como reguladores de la transcripción de las MMP en células normales y tumorales. Cuando se trata de dirigir la terapia cancerosa a las MMP, es importante reconocer que estas proteasas se expresan principalmente en fibroblastos del estroma, en células vasculares o en células inflamatorias que infiltran los tumores (21).

3.1.2. Regulación por transducción de señales y factores nucleares

Las vías de transducción de señales que median la activación transcripcional de las MMP son también diversas. Hay que citar las vías de la p38 quinasa activada por mitógenos (MAPK, ERK1 y ERK2), que estimulan o inhiben la expresión de las MMP dependiendo del tipo celular. Sin embargo, muchas señales extracelulares y vías de transducción de señales convergen en el factor de transcripción AP-1 y su sitio de unión se encuentra en la región promotora de la mayor parte de los genes *MMP*. AP1 consiste en miembros de la familia de oncoproteínas FOS y JUN, que proporcionan un mecanismo general para la *trans*-activación de la expresión de las MMP en tumores malignos. Otros factores nucleares controlan la expresión de las MMP. Estos son, la familia de oncoproteínas ETS, que se unen a sitios PEA3 presentes en los promotores de los genes *MMP*; el factor nuclear kappa B ($NF\kappa B$), que induce la expresión de las MMP-1, 3, 9, 13 y 14; los transductores de señales y activadores de la transcripción (STAT), que median los efectos de los interferones (IFN) sobre la expresión de los genes *MMP*; el factor 4 de las células T (TCF4) y la proteína dedo de zinc asociada a CAS (CIZ), que activa la expresión de las MMP-1, 3 y 7; la proteína p53, que modula la transcripción de MMP-1, 2 y 13; y el factor A1 de unión al núcleo (CBFA1), que forma parte de la cascada reguladora que controla la expresión de las MMP en células normales y tumorales. Se han identificado también, en los promotores de varios genes *MMP*, elementos reguladores negativos, tales como el elemento inhibidor del $TGF\beta$ (TIE) o el elemento rico en AG (AGRE) (21, 22).

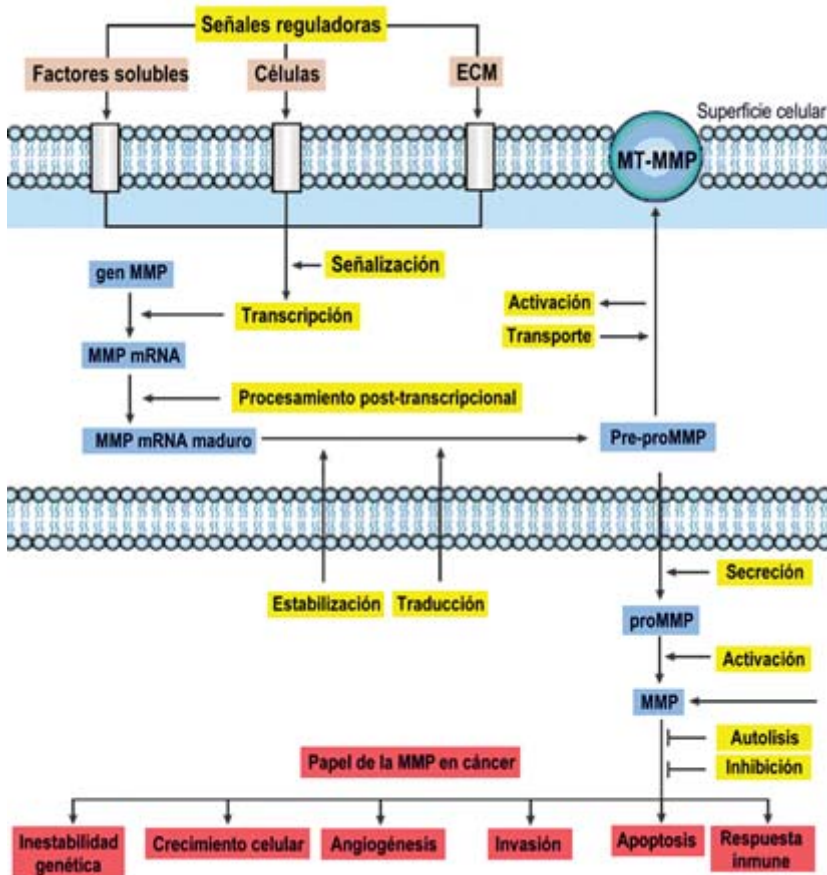


Figura 4. Regulación de la expresión y actividad de las MMP. Señales reguladoras, tales como factores solubles, contactos célula-matriz o célula-célula, interactúan con receptores específicos en la superficie celular, e inician una cascada de eventos que conduce a la generación de MMP funcionales localizadas en la superficie celular (MT-MMP) o secretadas al medio extracelular como proMMP. Las proMMP se activan de manera diferente. Las MMP activas están implicadas en procesos que promueven el desarrollo del cáncer (en rojo), como inestabilidad genética, crecimiento celular, angiogénesis e invasión. También intervienen en la inducción de la apoptosis y la respuesta inmune antitumoral del hospedador. La autólisis o los inhibidores de las MMP interfieren con la inducción de estos efectos celulares. Las etapas de la regulación de MMP en las que puede actuar la terapia se muestran en amarillo e incluyen respuestas celulares a señales reguladoras, señalización, inducción de la transcripción procesamientos post transcripcionales, transporte, activación y secreción de las MMP (18).

3.1.3. Regulación por polimorfismos de un solo nucleótido

Otro mecanismo implicado en la variabilidad de la expresión de los genes *MMP* deriva de la presencia de polimorfismos de un solo nucleótido en el promotor de los genes *MMP*, que altera la interacción de los factores *trans*-activadores de la transcripción y los elementos *cis* en el promotor, lo que incrementa la susceptibilidad a varios tipos de cáncer, como los carcinomas de ovario y mama (23).

3.2. Activación de las pro-MMP

3.2.1. Bases estructurales de la activación

Las MMP, al igual que otras proteasas, se sintetizan como zimógenos inactivos en estado latente, debido a que el prodominio enmascara el sitio activo al prevenir la hidratación del ión Zn^{2+} en dicho sitio, y está mantenido por el SH de una cisteína desapareada cercana al extremo C-terminal del dominio propéptido. Este grupo SH actúa como cuarto ligando para el ión Zn^{2+} del sitio activo y la activación que este «interruptor» cisteína Zn^{2+} se abre por eliminación proteolítica del dominio propéptido o por perturbación ectópica de la interacción cisteína Zn^{2+} . Una vez desplazado, el grupo SH se reemplaza por una molécula de agua y el enlace peptídico puede entonces romperse. El sitio para la rotura del proMMP-2 por la MT1-MMP que inicia la activación, se encuentra en un bucle expuesto en la superficie, dentro del prodominio, que es probable que esté también presente en otras MMP y que funcione como «cebo» para activar proteasas como las plasmina, chimasa y triptasa. Después de la rotura inicial, la estructura del prodominio se despliega parcialmente y expone sitios adicionales para posteriores roturas por enzimas activos como la MMP-3, o por rotura autolítica en *trans*. La unión a un ligando o a un sustrato puede también conducir a la separación del propéptido y a la activación de la proteasa. El requerimiento de una segunda MMP para llevar a cabo la rotura final de activación en la fenilalanina o tirosina en posición 80 u 81, respectivamente, ha sido un avance conceptual en la investigación de las MPP. Diferencias en el sitio activo, subsitio S12 y secuencias del propéptido de la MMP generan especificidad para activar las proteasas. Las MMP-1, son el mejor ejemplo de MMP que re-

quiere la rotura por MMP-3 para su activación. Esto no puede ser debido a una reacción autocatalítica, ya que el hueco poco profundo del subsitio S12 de MMP-1, no puede acomodar el grueso de las cadenas laterales tales como la fenilalanina aminoterminal del enzima activo procesado correctamente. Otras MMP, como las MMP-2, poseen un hueco profundo que puede acomodar a la Tir 81, de manera que la activación pueda completarse de forma autocatalítica en *trans* por otra MMP-2 activa, que ha de estar anclada en la superficie celular (24).

3.2.2. *Compartimentos activadores*

Varias MMP, las MT-MMP y las MMP-3, ejercen un importante papel activador sobre otras proMMP, que lo ejercen ellas mismas una vez que han sido activadas por otras proteasas, como las serina proteasas furina y plasmima. Así que, en casi todos los casos el proceso de activación de las MMP requiere la presencia de otras proteasas, que actúen directa o indirectamente en los circuitos proteolíticos. La activación de las MMP tiene lugar a veces en el espacio inmediato pericelular, en sitios con elevada afinidad para los respectivos precursores enzimáticos, como ocurre en la activación de proMMP-2 por las MT1-MMP y MT2-MMP. Sin embargo, la unión de MMP a las moléculas de la matriz unidas a la superficie celular puede proteger de la activación proteolítica, como ocurre cuando se une el proMMP-2 al colágeno unido a la integrina. El mecanismo de activación del proMMP-2, mediado por las MT-MMP es muy complejo e implica la formación de un agrupamiento multiproteico en la superficie celular que incluye la presencia de TIMP-2, que une el dominio C-terminal de la hemopexina del proMMP-2 a la molécula de MT1-MMP. Las integrinas pueden también formar parte de este complejo y estar implicadas en la activación pericelular de las MMP específicas. Al contrario que estos mecanismos extracelulares o pericelulares de activación de los proMMP, un subgrupo de estas proteasas, entre las que se incluyen las MT-MMP, MMP-11, MMP-23 y MMP-28, se activan dentro de la célula por proproteína convertasas del tipo furina, aunque la furina puede ser también efectiva en la activación de la MT-MMP en la superficie celular. No sorprende que diferentes enzimas activadores de las proMMP puedan alterarse durante la progresión tumoral y que

diferentes tumores sobreexpresen enzimas activadores, en especial las MT-MMP, como parte de una estrategia para localizar en la superficie celular alguna actividad degradativa requerida para el desarrollo del cáncer (24).

3.3. Inhibición de las metaloproteinasas

3.3.1. *Inhibidores tisulares de las MMP (TIMP)*

La actividad de las MMP se bloquea por inhibidores generales, como la macroglobulina α_2 , presentes en plasma y fluidos tisulares, y por inhibidores más específicos, los TIMP. Se han identificado cuatro TIMP humanos, los cuales están anclados en la ECM o secretados en el espacio extracelular. Los TIMP se unen a las MMP de manera no covalente en complejos estequiométricos 1:1. El equilibrio neto entre las actividades inhibidor y proteasa determina el potencial proteolítico de los tumores y la disminución de los niveles de TIMP se relaciona con la tumorigenesis. No obstante, existen muchos ejemplos en los cuales la expresión de TIMP se eleva durante la progresión tumoral, lo cual sería de esperar que redujera el potencial tumorigénico. Esto puede ser una respuesta protectora del estroma del hospedador (25, 26).

3.3.2. *Otros inhibidores endógenos de las MMP*

Existen varias proteínas endógenas también inhibidoras de las MMP, y algunas contienen dominios que son homólogos a los dominios inhibidores de TIMP. RECK (proteína rica en cisteína, que induce la reversión con motivos Kazal), es un inhibidor de las MMP de la superficie celular y un regulador clave de la integridad de la ECM y de la angiogénesis. Este es también el caso del TFPI2 (*tissue-factor pathway-inhibitor-2*), una serina proteasa que puede funcionar como inhibidora de las MMP. El C-terminal del procolágeno intensificador de la proteasa (PCPE), libera un fragmento C-terminal similar al dominio inhibidor de los TIMP, que posee actividad inhibidora de las MMP. De igual manera los inhibidores crípticos de las MMP pueden estar escondidos en los dominios NC1 (canstatina) del

colágeno tipo IV o en el dominio de unión a la laminina de la agrina, los cuales son similares en su estructura a los TIMP. Los objetivos fisiológicos de estos inhibidores putativos no están claros como tampoco su relevancia en cáncer (27).

Las MMP se encuentran reguladas, a nivel transcripcional y post-transcripcional (estabilización del mRNA, glicosilaciones), y su transcripción se induce en respuesta a las citoquinas, factores de crecimiento, agentes químicos, estrés oxidativo y estrés físico, oncogenes e interacciones con la ECM. Con estas herramientas se ejerce una estricta regulación de las MMP restringiéndose su acción a determinados procesos fisiológicos, como el desarrollo embrionario, reproducción y remodelación tisular. Por el contrario, muchos estados patológicos, entre ellos el cáncer, se asocian a una desregulación de las MMP (18).

4. METALOPROTEINASAS Y METÁSTASIS

La ECM juega un papel en el soporte estructural, señalización celular y respuesta a factores de crecimiento, que puede ser fisiológico y patológico. La manipulación de la ECM en los tejidos vascular y cardíaco es relevante respecto al envejecimiento vascular, ectasia y/o formación de aneurismas, aterosclerosis y enfermedades específicas de la matriz vascular o cardíaca (27). La composición de la matriz vascular depende del equilibrio entre actividad e inhibición de las MMP y existe potencial terapéutico para manipular sus actividades con inhibidores exógenos. El cambio del microambiente tisular mediante la degradación de la ECM, el procesamiento de los factores de crecimiento y la activación de las moléculas de adhesión, son esenciales para la proliferación y progresión de las células cancerosas. Las MMP juegan un papel central en estos procesos y en muchos tejidos cancerosos se detecta elevada expresión y activación de las MMP (14).

Una característica de los tumores malignos es su capacidad de invadir tejidos y generar metástasis. Los enzimas proteolíticos por su capacidad de degradar las proteínas de la ECM son importantes componentes de este proceso. Así que una guía paradigmática de los últimos años ha sido que la degradación de las estructuras titulares por las proteasas de las células tumorales, proporciona acceso a los

sistemas vascular y linfático y facilita la diseminación del cáncer. La secuencia del genoma humano ha revelado la existencia de más de 500 genes que codifican proteasas, estando gran número de ellas asociadas a tumores. Entre éstas, las MMP que procesan, a su vez, mediadores bioactivos, han sido el tema de muchos estudios comprometidos con pruebas clínicas para combatir el cáncer. Aunque se ha demostrado que los inhibidores de las MMP son agentes prometedores anti cáncer, los resultados hasta ahora conseguidos no han proporcionado los resultados esperados, lo cual ha hecho que se replanteen nuevas evaluaciones de las estrategias inhibitoras de las MMP (28).

Un tumor se inicia con eventos puntuales en una célula sana que forma parte de un tejido, la cual va a ir desarrollando una serie de características típicas del fenotipo tumoral: proliferación en ausencia de señales de crecimiento; insensibilidad a las señales de parada de la proliferación; escape de la apoptosis; capacidad de replicación ilimitada; activación de la angiogénesis, invasión de los tejidos y metástasis (29). Uno de los acontecimientos clave en la «malignización» del tumor es la degradación de la ECM. Tanto para el crecimiento del tumor como para la invasión del tejido, las células neoplásicas deben degradar los distintos componentes de la matriz en la que están embebidas. Igualmente, la degradación de la ECM es fundamental para la angiogenesis, o formación de vasos sanguíneos a partir de la red sanguínea preexistente (30). En el cáncer, además de las razones estructurales relacionadas con el crecimiento de la masa tumoral y la invasión de los tejidos, la acción degradativa de las MMP sobre la ECM juega un papel muy importante porque es capaz de alterar las uniones célula-ECM y célula-célula, liberar, activar o desactivar moléculas señalizadoras autocrinas o paracrinas y activar o inactivar los receptores de la superficie celular. En general, el papel de las MMP es crear un ambiente favorable para el desarrollo del tumor, microambiente que promueve la «malignización». Por este motivo, se estudian terapias antineoplásicas sobre la base de modificar la acción de las MMP. Existen muchas referencias en este sentido que generan ratones transgénicos y suprimidos (*knock-out*) en los genes que codifican las MMP, los cuales se usan como modelo en los estudios de desarrollo neoplásico, para identificar las mejores dianas de uso terapéutico. Por poner algún ejemplo, se ha visto que

el ratón suprimido en el gen *Mmp2* (*Mmp2*^{-/-}), presenta menor crecimiento tumoral y una disminución de la carcinogénesis pancreática; el ratón *Mmp9*^{-/-} presenta una disminución de la carcinogénesis de piel y páncreas, y menor desarrollo de invasividad y metástasis. El problema con este tipo de metodología es que existe una gran variedad de MMP, con lo que el bloqueo de una de ellas no suele ser suficiente para frenar su acción. Aún así, se obtienen resultados muy interesantes para su aplicación terapéutica. Las estrategias que se están usando para la inhibición de las MMP en terapia antineoplásica se describen a continuación.

4.1. Interceptar la transcripción de las MMP para impedir su síntesis

Esto puede conseguirse de tres maneras: bloqueando la acción de factores extracelulares (la propia molécula o su receptor); bloqueando las rutas de transmisión de señales (MAPK, p38 quinasa, Ras o TGF-β), y bloqueando los factores de transcripción que controlan los promotores de las MMP (AP-1, NFκB) (31).

4.2. Impedir la activación de las proMMP

Existen algunas MMP que juegan un papel muy importante en la activación de otras MMP, como es el caso de MT1-MMP: al bloquear la MT1-MMP se evita la activación de la cascada proteolítica. Existen, además, inhibidores directos de las MMP, como la trombospondina-1, que se une a la proMMP2 y la pro-MMP9 impidiendo su activación. En este apartado se incluyen también las endostatinas y angiostatinas.

4.3. Inhibir la acción de las MMP activas

Pueden emplearse varios métodos como el uso de los TIMP, aunque con este método aparecen problemas debido a que estas moléculas presentan otras funciones aparte de la inhibición de las MMP y, además, suelen tener un amplio espectro de acción. También pueden utilizarse los inhibidores sintéticos de las MMP (MMPI) (25).

Aunque parece que se han llegado a conseguir métodos bastante eficientes para atajar el crecimiento tumoral, las pruebas clínicas no siempre han tenido éxito que cabía esperar. Esto se debe a que este tipo de pruebas suele hacerse en pacientes con tumores en fases muy avanzadas, en los que la vascularización del tumor está ya plenamente establecida, con lo que la inhibición de la angiogénesis, por medio del bloqueo de las MMP, no sirve de mucho. Hay que pensar que las MMP realizan su papel más importante en las fases tempranas, con lo que la mayoría de las veces se están usando los tratamientos fuera de contexto. Además, hay que considerar otro aspecto importante y es que existen algunas MMP que tienen acción antiangiogénica. Este es el caso de las ADAMTS, subgrupo de MMP con actividad desintegrina y que por presentar en su molécula dominios del tipo trombospondina, algunos de sus miembros son capaces de bloquear la activación de la angiogénesis inducida por el VEGF (39). Se dan muchos casos en los que las MMP liberan factores antiangiogénicos por degradación de los componentes de la ECM, como es el caso de las MMP2 y MMP9, que están muy implicadas en la progresión tumoral, y que intervienen en la hidrólisis de plasminógeno para liberar angiostatina, un potente antiangiogénico. Otras, como la MMP8, están muy implicadas en procesos inflamatorios, de manera que los ratones suprimidos para su gen presentan una respuesta inflamatoria anómala que propiciaría un ambiente favorable para el desarrollo de los tumores (32, 33).

¿Significa todo esto que los procedimientos terapéuticos anteriormente mencionados no son válidos? No se trata de eso, simplemente hay que estudiar en profundidad todos los procesos en los que intervienen las MMP, así como establecer en qué fase del desarrollo tumoral está actuando cada una de ellas. De esta forma, y aplicando un diagnóstico preciso y exacto del tumor, estos tratamientos podrán dar mejores resultados en un futuro esperemos que no muy lejano.

5. DIANAS TERAPÉUTICAS

Las investigaciones realizadas en los últimos años han contribuido a enriquecer de manera notable el conocimiento de la implicación de las proteasas en el cáncer. Tras esta información ha surgido el deseo de encontrar inhibidores de la actividad proteolítica asocia-

da con la progresión de tumores malignos. El problema se puede abordar desde numerosos puntos de vista, y se están ya diseñando estrategias que tratan de actuar sobre las rutas de síntesis y secreción de las diversas proteasas o sobre sus mecanismos de activación. Sin embargo, la inmensa mayoría de los esfuerzos en este sentido están siendo dirigidos hacia la búsqueda de inhibidores directos de las proteasas, cuya importancia ha sido apreciada por la propia naturaleza al dotar a los organismos de una amplia batería de inhibidores endógenos capaces de hacer frente a una actividad proteolítica excesiva, como la que acontece durante la progresión tumoral. Existen inhibidores específicos de las distintas familias de proteasas, entre los que podemos mencionar las serpinas que bloquean la actividad de las serina-proteasas, las cistatinas que actúan sobre las cisteína-proteasas, o los TIMP. La importancia de estos últimos ha quedado de manifiesto en recientes investigaciones, que han demostrado que su sobreexpresión es capaz de bloquear la invasión tumoral en distintos modelos *in vitro* e *in vivo*. Estas observaciones han estimulado las investigaciones dirigidas al diseño de inhibidores sintéticos, cuyas estructuras derivan de la información obtenida sobre los mecanismos utilizados por los propios inhibidores endógenos para el bloqueo de las MMP tumorales.

El gran número de inhibidores de las MMP sintetizados son, en su mayoría, derivados pseudopeptídicos basados en la estructura del colágeno alrededor del sitio de hidrólisis por las colagenasas, que poseen un grupo quelante capaz de inactivar la metaloproteasa correspondiente. Alguno de estos inhibidores, como Marimastato (British-Biotech), AG3340 (Agouron/Hoffman-La Roche), D2163 (Chiroscience), BMS-275291 (Bristol Myers-Squibb), Ro31-9790 (Roche) o CGS-27023^a (Novartis), se utilizan ya en ensayos clínicos para el tratamiento de distintos tumores. No obstante, el diseño de terapias antitumorales basadas en el empleo de inhibidores de proteasas ofrece todavía limitaciones por la diversidad de enzimas proteolíticos asociados a los procesos tumorales y la dificultad de dirigir la terapia a las células apropiadas, evitando los efectos secundarios no deseados sobre células normales. Por eso, la tendencia actual es diseñar inhibidores específicos para las distintas MMP, con mejores propiedades farmacológicas, que puedan ser incorporados a las estrategias de terapia combinada anti-cáncer (34).

La búsqueda de soluciones al problema del cáncer ha sido en los últimos tiempos, amplia y diversa. La cirugía, y después la quimioterapia y la radioterapia, han aportado respuestas precisas e incluso han llegado a evitar que cáncer y muerte fuesen inseparables. Los avances en biología molecular han desvelado secretos importantes de los procesos tumorales y han mostrado que el cáncer es el resultado del acumulo de daño genético en oncogenes, genes supresores y genes de mantenimiento de la integridad del DNA. Sin embargo, pese a estos avances, nuestro conocimiento es aún limitado especialmente en lo referente a la característica más letal de los tumores malignos, su capacidad de generar metástasis. En efecto, una vez que las células tumorales alcanzan el torrente circulatorio y se diseminan por el organismo, la progresión tumoral se torna prácticamente irreversible. Por eso, uno de los objetivos prioritarios es la caracterización de los mecanismos moleculares que conducen a la metástasis. La metástasis es el resultado de una compleja cascada de acontecimientos, que comprende: la interacción de las células tumorales con componentes específicos de la ECM; la destrucción local de esa matriz y finalmente, la migración de las células tumorales a sitios distantes. Se desconocen muchos detalles de los mecanismos implicados en cada una de estas tres fases, no obstante, los esfuerzos realizados han permitido progresar de manera notable en su conocimiento. La degradación de la ECM en contacto con el tumor, a través de la acción concertada de una variedad de enzimas proteolíticas, permite a las células tumorales su migración y diseminación. El mundo proteolítico ha verificado en los últimos diez años una vertiginosa expansión y en la actualidad se estima que el 2% de nuestro patrimonio genético posee información para sintetizar proteasas (33, 34).

6. PERSPECTIVAS Y CONCLUSIONES

La expresión aberrante de las MMP contribuye a la patogénesis de gran variedad de enfermedades, lo que hace insistir en la necesidad de profundizar en los mecanismos que regulan dicha expresión. El estado «abierto» o relajado de la cromatina es un requisito previo para que se expresen los genes *MMP*, los cuales se pueden inducir mediante múltiples vías señalizadoras, que conducen a un incremento en la

actividad de AP-1, PEA3 y otros factores de transcripción (22, 23). El diálogo entre los factores de transcripción y los elementos *cis*, origina la expresión diferencial de los genes *MMP*, pero aún no se conoce cómo se consigue la regulación de la expresión de estos genes específicos de células/tejidos. De hecho, la mayoría de las células tumorales en cultivo expresan *MMP*, pero se ha demostrado, que es en el estroma, y no en las células cancerosas, donde se expresan estas colagenasas. El argumento es que las células cancerosas son una fuente de citoquinas y factores de crecimiento que son los que inducen la expresión de las *MMP* en las células del estroma. Esta hipótesis, sin embargo, no sirve para explicar por qué la expresión de las *MMP* es silente en cánceres que acarrean oncogenes activos (*Ras/Src*) inductores de la expresión de *MMP*, o genes supresores inactivos que no reprimen la expresión. Esta paradoja tiene al menos dos explicaciones: (i) que la menor estabilidad del mRNA en células tumorales origine señales indetectables, o (ii) que la estructura compacta o «cerrada» de la cromatina, impida el acceso de los factores de transcripción al promotor de las *MMP* (22, 23).

De hecho, se ha descrito que una proteína asociada a la metástasis (MTA1), condensa la estructura de la cromatina cercandando o rodeando el gen *MMP-9* y reprimiendo su transcripción, lo que explica la carencia de expresión de este gen en células tumorales de cáncer mamario. En resumen, aunque hoy se conoce mucho respecto a la identificación de elementos *cis* y sus correspondientes *trans*-activadores en la regulación de la expresión de las *MMP*, se tienen grandes deficiencias en el conocimiento del control epigenético de este grupo de enzimas y de los mecanismos que controlan la especificidad celular y tisular. La percepción actual del problema se ha ampliado, y ha pasado de considerar a las proteasas como ejecutoras de acciones inespecíficas, a definir su participación en múltiples procesos sutilmente regulados dentro de la progresión tumoral. Hoy debemos contemplar este fenómeno como una destrucción programada cuyo fin último es la generación de metástasis. La resolución de la estructura tridimensional de las distintas proteasas asociadas al cáncer, el conocimiento de los mecanismos responsables de su expresión en las células tumorales o en las células estromales adyacentes, y la creación de nuevos modelos animales de ganancia o pérdida de actividad proteolítica, constituyen hoy un desafío del

futuro próximo en este campo. En último término, estos estudios podrán llegar a diseñar inhibidores específicos que contribuirán a afrontar con mayor esperanza el principal problema asociado al desarrollo de los tumores malignos, su capacidad para destruir las barreras tisulares e iniciar un viaje invasivo y colonizador de irreparables consecuencias para los pacientes con cáncer.

7. AGRADECIMIENTOS

A M.^a Pilar Iniesta Serrano por su inestimable ayuda en la revisión del manuscrito, y a Adoración Urrea Salazar por la búsqueda de la bibliografía y el ajuste electrónico de las figuras.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Cascales Angosto, M. (2008) Matriz extracelular y proteasas. En: *Bases celulares y moleculares de la regeneración hepática* (autora Cascales, M.). Instituto de España. Madrid, pp. 71-108.
2. Boticario Boticario, C. & Cascales Angosto, M. (2008) Metaloproteinasas de la matriz extracelular y cancer. En: *Innovaciones en cáncer* (autoras Boticario, C. & Cascales, M.). UNED. Madrid, pp. 415-439.
3. Yan, C. & Boyd, D. D. (2007) Metalloproteinase gene expression. *J. Cell Physiol.* 211: 19-26.
4. Roycik, M. D.; Fang, X. & Sang, O. X. (2009) A fresh prospect of extracellular hydrolytic enzymes and their substrates. *Curr. Pharm. Des.* 15: 1295-1308.
5. Murphy, G. & Nagase, H. (2008) Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol. Aspects Med.* 29: 290-308.
6. Gross, J. & Lapiere, C. M. (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 45: 1014-1022.
7. Bauer, E. A.; Stricklin, G. F.; Jeffrey, J. J. & Eisen, A. Z. (1975) Collagenase production by human skin fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 64: 232-240.
8. Sternlicht, M. D. & Werb, Z. (2001) How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 463-516.
9. Harper, E. & Bloch, K. J. (1971) The zymogen of tadpole collagenase. *Biochemistry.* 10: 3055-3041.
10. Fingleton, B. (2007) Matrix metalloproteinases as valid clinical targets. *Curr. Pharm. Des.* 13: 333-346.
11. Overall, C. M. & López-Otín, C. (2002) Strategies for MMP inhibition in cancer: Innovations for the post-trial era. *Nature Rev. Cancer.* 2: 657-672.

12. Folgueras, A. R.; Pendas, A. M.; Sánchez, L. M. & López-Otín, C. (2004) Metalloproteinases in cancer: from new function to improved inhibition strategies. *Int. J. Dev. Biol.* 48: 411-424.
13. Liotta, L. A.; Tryggvason, K.; Garbosa, S., Hart, I. *et al.* (1980) Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature.* 284: 67-68.
14. Deruyina, E. & Quigley, J. (2006) Matrix metalloproteinases and tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 25: 9-34.
15. Mochizuki, S. & Okada, Y. (2007) ADAMs in cancer cell proliferation and progression. *Cancer Sci.* 98: 621-628.
16. Edwards, D. R.; Handsley, M. M. & Pennington, C. J. (2008) The ADAM metalloproteinases. *Mol. Aspects Med.* 29: 258-289.
17. Steiner, D. F. (1998) The proprotein convertases. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2: 31-39.
18. López-Otín, C. & Bond, J. S. (2008) Proteases: multifunctional enzymes in life and disease. *J. Biol. Chem.* 283: 31433-31437.
19. López-Otín, C. & Matrisian, L. (2007) Emerging roles of proteases in tumor progression. *Nature Rev. Cancer.* 7: 800-808.
20. Huang, S. C.; Sheu, B. C.; Chang, W. C.; Chaeg, C. Y.; Wang, P. H. & Lin, S. (2009) Extracellular matrix proteases - Cytokine regulation role in cancer and pregnancy. *Front. Biosci.* 14: 1571-1588.
21. Puente, X. S.; Sánchez, L. M.; Gutiérrez-Fernández, A.; Velasco, G. & López-Otín, C. (2005) A genomic view of the complexity of mammalian proteolytic systems. *Biochem. Soc. Trans.* 33: 331-334.
22. Nakamoto, T.; Yamagata, T., Sakai, T., *et al.* (2000) CIZ, a zinc finger protein that interacts with p130(cas) and activates the expression of matrix metalloproteinases. *Mol. Cell Biol.* 20: 1649-1658.
23. Ye, S. (2000) Polymorphisms in matrix metalloproteinase gene promoters: implications in regulation of gene expression and susceptibility of various diseases. *Matrix Biol* 19: 623-629.
24. López-Otín, C. & Overall, C. M. (2002) Protease degradomics a new challenge for proteomics. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3: 509-519.
25. Coussens, L. M.; Fingleton, B. & Matrisian, L. M. (2002) Matrix metalloprotease inhibitors and cancer: trials and tribulations. *Science.* 295: 2387-2392.
26. Fingleton, B. (2003) Matriz metalloproteinases inhibitors for cancer therapy: the current situation and future prospects. *Expert Opin. Ther. Targets.* 7: 385-397.
27. Handsley, M. M. & Edwards, D. R. (2005) Metalloproteinases and their inhibitors in tumor angiogenesis. *Int. J. Cancer.* 115: 849-860.
28. Fridman, R. (2006) Metalloproteinases and cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 25: 7-8.
29. Hanahan, D. & Weinberg, R. (2000) The hallmark of cancer. *Cell.* 100: 57-70.
30. Bergers, G. & Benjamin, L. E. (2003) Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat. Rev. Cancer.* 3: 401-410.

31. Fanjul-Fernández, M.; Folgueras, A. R.; Cabrera, S. & López-Otín, C. (2009) Matrix metalloproteinases: Evolution, gene regulation and functional analysis in mouse models. *Biochim. Biophys. Acta.* Jul 23. [Epub ahead of print].
32. Gutiérrez-Fernández, A.; Fueyo, A.; Folgueras, A. R. & López-Otín, C. (2008) Matrix Metalloproteinase-8 Functions as a Metastasis Suppressor through Modulation of Tumor Cell Adhesion and Invasion. *Cancer Res.* 68: 2755-2763.
33. Gueders, M. M.; Balbin, M.; Rocks, N.; Foidart, J. M. *et al.* (2005) Matrix metalloproteinase-8 deficiency promotes granulocyte allergen-induced airway inflammation. *J. Immunol.* 175: 2589-2597.
34. Affara, N. I.; Andreu, P. & Coussens, L. M. (2009) Delineating protease functions during cancer development. *Methods Mol. Bio.* 539: 1-32.

* **Información de contacto:**

Dra. María Cascales Angosto.

Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia.

Email: mcascales@insde.es

Abreviaturas: **ADAM**, desintegrina y metaloproteínasa (unida a membrana). **ADAMTS**, ADAM con motivos trombospondina (no unida a membrana). **AGRE**, elemento rico en AG. **AP-1**, factor de transcripción; **CBFA1**, factor A1 de unión al núcleo. **CIZ**, proteína dedo de zinc asociada a CAS. **ECM**, matriz extracelular. **ERK1 y ERK2**, quinasas reguladas por señales extracelulares. **Furina**, proproteína convertasa tipo subtilina (SPC1), serina proteasa. **IFN**, interferón. **HP-EGF**, factor de crecimiento epidérmico unido a la heparina. **IL-1**, interleuquina 1. **MMP**, metaloproteínasas de la matriz extracelular. **MTA1**, proteína asociada a la metástasis. **MT-MMP**, metaloproteasas de membrana. **NFκB**, factor nuclear kappa B. **PEA3**, proteína 3 de unión al intensificador A del poliovirus. **Plasmina**, serina proteasa. **p38**, proteína quinasa. **p53**, proteína supresora de tumores. **ProMMP**, precursor de las MMP. **SPC**, proproteína convertasa tipo subtilina, serina proteasa. **STAT**, transductor de señales y activador de la transcripción. **TCF4**, factor 4 de las células T. **TFPI2**, *tissue-factor pathway-inhibitor-2*. **TGFα y TGFβ**, factores de crecimiento transformantes alfa y beta; **TIE**, elemento inhibidor del TGFβ. **TNFα**, factor de necrosis tumoral alfa. **TIMP**, inhibidor titular de las MMP. **Trombospondina**, glicoproteína trimérica de 420 kDa, que forma parte de ADAMTS. **VEGF**, factor de crecimiento endotelial vascular.