

Artículo de revisión

Localizador
08-016

As metaloproteinases-2 e -9 da matriz e o carcinoma espinocelular: uma análise da literatura

Matrix metalloproteinase-2 and -9 and the squamous cell carcinoma: a literature analyses

AB Palazzo Carpêna¹, A. Anderson Madrid Francisco², R. Rangel Bonamigo³

¹Serviço de Dermatologia do Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre. Brasil. ²Universidade Católica de Pelotas. Brasil.

³Serviço de Dermatologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Brasil.

Correspondencia:

AB Palazzo Carpêna

Irmão José Otão 170/143, Independência, Porto Alegre, RS
CEP: 90035-060

Tels.: (55+51): 32080266, 92883150, 32148153

e-mail: biacarpêna@hotmail.com

Resumo

O Carcinoma espinocelular (CEC) trata-se de uma neoplasia maligna com potencial invasivo e inclusive metastático, sendo que vários fatores contribuem para esta invasividade local, dentre os quais estão as metaloproteinases da matriz (MMPs). Estas consistem em enzimas proteolíticas, que além de exercerem funções fisiológicas, como a embriogênese, degradação e remodelação dos componentes da matriz extracelular (MEC), também participam dos processos de invasão e metástase. Nesta regulação agem também os inibidores teciduais das MMP (TIMPs) que atuam na inibição e controle destas enzimas.

Existem pelo menos 21 subtipos de MMPs, sendo as metaloproteinases 2 e 9 (também chamadas gelatinases A e B, respectivamente) as principais enzimas deste grupo estudadas neste processo.

Novos estudos devem ser publicados a respeito do assunto, uma vez que a compreensão da carcinogênese é essencial para o desenvolvimento de tratamentos futuros.

(AB Palazzo Carpêna, A. Anderson Madrid Francisco, R. Rangel Bonamigo. As a metaloproteinases-2 e -9 da matriz e o carcinoma espinocelular: uma análise da literatura. Med Cutan Iber Lat Am 2008;36(6):285-290)

Palavras chave: inibidor tisular de metaloproteinase-1, metaloproteinase 2 da matriz, metaloproteinase 9 da matriz e carcinoma de células escamosas.

Summary

The Squamous cell carcinoma (SCC) is a malignant cancer with metastatic potential; several factors contribute to its local invasiveness, among which are the matrix metalloproteinases (MMPs).

These consist of proteolytic enzymes, which in addition to exerting physiological functions, such as embryogenesis, degradation, and remodeling of components of the extracellular matrix, are also part of the process of invasion and metastasis. In this regulation, tissue inhibitors (TIMPs) also act in the inhibition and control of these enzymes.

There are at least 21 subtypes of MMPs, metalloproteinase 2 and 9 (also known as gelatinases A and B respectively) are the main enzymes of the group studied in this process.

Since the understanding of the carcinogenesis is essential for the development of future treatments, further studies should be published about the subject.

Key words: tisular inhibitor of metalloproteinase-1, matrix's metalloproteinase-2, matrix's metalloproteinase-9, squamous cells carcinoma.

O Carcinoma espinocelular (CEC) consiste em uma neoplasia maligna derivada dos queratinócitos suprabasais, podendo também surgir no epitélio escamoso das mucosas. Juntamente com o carcinoma basocelular (CBC) são os principais representantes dos cânceres de pele chamados não melanoma.

Trata-se de um carcinoma com potencial invasivo e inclusive metastático, sendo que vários fatores contribuem para a invasividade local deste tumor, dentre os quais estão as metaloproteinases da matriz (MMPs), enzimas proteolíticas que participam na degradação e remodelação dos componentes da matriz extracelular (MEC)[1]. Nesta regulação agem também os inibidores teciduais das MMP (TIMPs) que atuam na inibição e controle destas enzimas.

Existem pelo menos 21 subtipos de MMPs, sendo o objetivo deste trabalho apresentar uma revisão da literatura sobre a relação entre as metaloproteinases 2 e 9, seus inibidores naturais (TIMP1 e 2), com o carcinoma espinocelular.

Revisão literatura

O carcinoma epidermóide - conceito e incidência

O carcinoma epidermóide (CEC), também chamado carcinoma escamoso ou espinocelular tem origem no queratinócto da epiderme, através de células normais que sofreram a ação de um ou mais agentes cancerígenos, os quais provocaram alterações permanentes no DNA, originando clones de células tumorais.

Esta neoplasia possui capacidade de invasão tecidual local e mais raramente de metastatização entre 1 a 5% dos casos[2].

O carcinoma basocelular e o carcinoma epidermóide são os subtipos mais freqüentes das neoplasias originadas no tegumento cutâneo (70% e 25%, respectivamente). No Brasil, em 2006, o número de casos novos de câncer de pele não melanoma foi de 55.480 casos em homens e de 61.160 em mulheres, de acordo com as Estimativas de Incidência de Câncer publicadas pelo INCA. Estes valores correspondem a um risco estimado de 62 casos novos a cada 100 mil homens e 60 para cada 100 mil mulheres[4]. Sabe-se que a incidência de CEC tem aumentado muito nos últimos 20 anos, talvez pela maior exposição solar ou pelo avanço no diagnóstico. Três estudos conduzidos na Austrália evidenciaram uma elevação de cerca de 75% dos CEC de 1985 a 1995[1].

A incidência do câncer de pele não-melanoma em pessoas brancas cresce proporcionalmente com a proximidade do Equador, uma diminuição de 8-10° na latitude dobra a incidência de CEC[4]. Sabe-se também, que a incidência de CEC aumenta consideravelmente com a idade, sendo infre-

quentemente abaixo dos 45 anos de idade, embora esteja crescendo a ocorrência em jovens[2, 3].

Fatores de risco

Observa-se freqüência elevada em pacientes idosos, com fototipo baixo, e principalmente com exposição excessiva a raios ultravioleta (UV). Populações compostas por negros, africanos, asiáticos, bem como por outros tipos de pele escura demonstram baixo risco para desenvolver CEC. No entanto, ao contrário do que ocorre em pessoas com fototipos baixos a radiação solar parece não ser o principal fator etiológico na raça negra, pois as lesões ocorrem com mais freqüência em áreas não expostas ao sol, estando mais relacionadas a condições inflamatórias prévias da pele, como cicatrizes de queimaduras, de lupus eritematoso ou traumas e úlceras crônicas[2].

Os raios ultravioleta B (UVB) são os raios mais associados ao CEC, apesar de os ultravioleta A (UVA) também terem participação. A radiação UVB torna-se fator etiológico mais relevante que a UVA porque determina alterações no DNA e outros componentes celulares, alterando o sistema imune e reagindo com agentes químicos fotoativos exógenos[3].

Quanto aos fatores genéticos, sabe-se que pessoas com mutação do gene p53 seriam mais sensíveis à radiação UV, uma vez que consiste em um gene supressor que protegeria contra o câncer de pele, através da indução apoptótica de células lesadas pela radiação UVI[2]. Outros fatores que contribuem para uma maior freqüência deste câncer são: radiações ionizantes, imunossupressão, carcinógenos ambientais (arsenicismo, hidrocarbonetos...) cicatrizes, queimaduras ou exposição crônica ao calor, dermatoses inflamatórias, infecções crônicas e desordens hereditárias tais como, albinismo, epidermodisplasia verruciforme e xeroderma pigmentoso[2].

É importante ressaltar que o indivíduo que desenvolveu um câncer de pele não melanoma tem risco aumentado de fazer um novo carcinoma nos anos subseqüentes, principalmente nos primeiros 12 meses do diagnóstico. Em um estudo observou-se que 52% destes pacientes desenvolveram um novo câncer nos 5 anos que se seguiram após o tratamento para o primeiro CEC[2].

O Quadro 1 apresenta os principais fatores de risco para CEC.

Lesões precursoras

Previamente ao desenvolvimento e manifestação de malignidade na epiderme, tem-se uma série de alterações displásicas progressivas, correspondentes à atipia, que se manifestam clinicamente como ceratoses actínicas[7].

Quadro 1. Fatores de risco para CEC.

Fatores de risco	Observações
Ultravioleta A (UVA)	
Ultravioleta B (UVB)	Raio UV mais relacionado ao CEC[3].
Fatores genéticos	Mutação p53[5] e inativação p16[6].
Radiações ionizantes	
Carcinógenos ambientais	Arsênico, hidrocarbonetos...
Cicatrizes	
Queimaduras	Ou também exposição crônica ao calor.
Dermatoses inflamatórias	Lupus eritematoso crônico discóide
Infecções crônicas	
Desordens hereditárias	Albinismo, epidermodisplasia verruciforme e xeroderma pigmentoso[2].
Neoplasia prévia	Principalmente nos primeiros 12 meses[2].

Sabe-se que apesar da pequena progressão da ceratose actínica (CA) para CEC (0,1-10% por ano)[8], 80% dos carcinomas epidermóides originam-se em locais com ceratoses actínicas ou próximo a elas[9]. Muitos autores descrevem essas lesões como pré-malignas de tumores epiteliais que podem evoluir para um CEC. No entanto, outros defendem que não há diferença no padrão histopatológico entre CA e CEC, acreditando que corresponde à progressão da mesma doença[10].

A doença de Bowen e a eritroplasia de Queyrat são consideradas por alguns autores como já sendo carcinoma *in situ*, mas também podem ser enquadradas em lesões pré-malignas[11, 12].

Histopatologia do CEC

O tumor pode surgir de células isoladas, agrupadas (uma ou várias massas). O câncer é considerado invasivo quando ultrapassa a camada basal, e geralmente fica restrito à derme, raramente atingindo o subcutâneo. Histopatologicamente vê-se tecido normal, alternado com células escamosas atípicas, aumento das mitoses, figuras celulares aberrantes, hiperclorose, acantose epidérmica e perda da polaridade[13]. Há também os focos de queratinização chamados pérolas cárneas, sendo que a ausência deste achado significa maior indiferenciação, e esta representa um maior potencial de malignização[13].

Em 1932, Broders introduziu uma classificação baseada na diferenciação dos queratinócitos, usada até hoje (Quadro 2).

Quadro 2[14].

Grau	% de células indiferenciadas	Outros
1	< 25	Queratinização (pérolas cárneas)
2	< 50	
3	< 75	
4	> 75	Atipia, perda das pontes intercelulares

As metaloproteinases

As metaloproteinases (MMPs) consistem em uma família de enzimas proteolíticas, zinco dependentes, que além de exercerem funções fisiológicas, como a remodelação tecidual e a embriogênese, também participam dos processos de invasão e metástase[1]. Coletivamente, as MMPs são capazes de degradar todas as proteínas da matriz extracelular (MEC)[10] e estão relacionadas à progressão tumoral tanto pela capacidade de romper estas barreiras físicas como por regularem a angiogênese e proliferação celular através da modulação de fatores de crescimento e citocinas[3]. Assim, alguns estudos demonstraram que o aumento na produção dessas enzimas tem sido associado ao fenótipo invasivo de alguns tumores[15].

As MMP consistem em pelo menos 21 tipos (Quadro 3), sendo subdivididas em colagenases 1, 2, 3 (MMP1, 8 e 13), gelatinases A e B (MMP2 e 9), estromelisinas 1, 2, 3 e metalloelastase (MMP, 3, 10, 11 e 12), matrilisinas 1 e 2 (MMP7 e 26), metaloproteinases tipo membrana (MMP 14, 15, 16, 24, 25 e 26, também chamadas MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP, MT5-MMP, MT4-MMP, MT6-MMP, respectivamente) e outras MMP (19, 20, 28, 23)[11].

MMP-2 e MMP-9 (Gelatinases)

A MMP 2 (gelatinase A), também é conhecida como colagena tipo IV e pode ser encontrada numa variedade de células normais, bem como em algumas células que sofreram transformações, incluindo fibroblastos, queratinócitos, células endoteliais e condrocitos[16]. Já a MMP-9 (gelatinase B) é produzida apenas em situações patológicas, tais como queratinócitos e macrófagos alterados e também em muitas células malignas.

Estas enzimas são capazes de degradar alguns tipos de colágeno (IV, V, VII, X, XI e XIV), colágeno desnaturado (gelatinas), elastina, proteoglicanas, fibronectina entre outras. Acredita-se que a MMP-9 tenha um importante envolvimento na invasão de células cancerígenas[8].

As gelatinases degradam principalmente o colágeno tipo IV e o colágeno desnaturado[9]. Os colágenos constituem

Quadro 3. Classificação das metaloproteinases adaptada de E. Kerkelä, U. Saarialho-Kere[8]

Proteína	MMP
<i>Colagenases</i>	
Colagenase 1	MMP-1
Colagenase 2	MMP-8
Colagenase 3	MMP-13
<i>Gelatinases</i>	
Gelatinase A	MMP-2
Gelatinase B	MMP-9
<i>Estromalisinias</i>	
Estromalisina 1	MMP-3
Estromalisina 2	MMP-10
<i>Matrilisinas</i>	
Matrilisina 1	MMP-7
Matrilisina 2	MMP-26
<i>MMPs ativadas por furinas</i>	
Estromalisina 3	MMP-11
Epilisina	MMP-28
MMP-21	
<i>MMPs transmembrana</i>	
MT 1-MMP	MMP-14
MT 2-MMP	MMP-15
MT 3-MMP	MMP-16
MT 5-MMP	MMP-24
<i>MMPs transmembrana tipo II</i>	
MMP 23 A	
MMP 23 B	
<i>MMPs transmembrana com domínio GPI</i>	
MT 4-MMP	MMP-17
MT 6-MMP	MMP-25
<i>Outras MMPs</i>	
Metaloelastase	MMP-12
MMP 19	
Enamelisina	MMP-20
MMP-27	

uma família de proteínas, com mais de 21 tipos conhecidos, e representam o componente de maior quantidade em todas as matrizes extracelulares[15]. Alguns estudos demonstram a relação entre a descontinuidade de alguns tipos de colágeno durante o processo de invasão tumoral[15]. O colágeno tipo IV é um importante constituinte da membrana basal (MB), portanto a destruição desse componente da MB contribui para o processo de carcinogênese, facilitando a invasão do estroma e de vasos sanguíneos, processo fundamental para a metastatização[9].

Na literatura encontram-se estudos que relacionam o aumento dos níveis de MMP-2 e MMP-9 com o potencial de invasão neoplásica geral, aumento da angiogênese e metástases[9].

Inibidores das metaloproteinases

Em condições fisiológicas as MMP são sintetizadas e secretadas como pró-enzimas (zimógenos) e são ativadas por proteases (plasmina, tripsina, calicreina, quimase, triptase e até mesmo por outras metaloproteinases). Influenciam nesta transformação alguns inibidores séricos (α 1-antitripsina e fator inibidor do plasminogênio ativado 1 e 2) e principalmente seus inibidores naturais, tais como os inibidores teciduais das MMP (TIMP-1, 2, 3 e 4)[7] e a α 2-macroglobulina. A maioria das MMPs são inibidas pelos TIMPs *in vitro*, exceto as MT1 e MT3-MMPs, as quais não são inibidas pelo TIMP-1. Até o momento sabe-se que o TIMP-1 inibe preferencialmente a pró-MMP-9 enquanto o TIMP-2 e o 4 inibem a pró-MMP-2.

Os TIMPs estão presentes na maioria dos tecidos e fluidos do corpo, entretanto variam muito na forma da distribuição, sendo que os TIMPs 1 e 3 são regulados por vários fatores de crescimento, citoquinas, retinóides e glicocorticoides, já o TIMP-2 é constitucional nos tecidos (Quadro 4).

Quadro 4. MMP-2 e MMP-9: substratos e fatores de ativação: modificada de E. Kerkelä, U. Saarialho-Kere[8].

Enzima	Substratos	Ativadores
MMP-2 ou gelatinase A	Colágeno I, IV, V, VII, X, gelatinas, fibronectinas, tenascin, fibrilina, osteonectina, entactin, aggrecan, vitronectin, decorin, MBP, plasminogênio, α 2M, LN-5, IGFBP, TNF precursor, pro-TGF- β , α 1P1	MMP-1, -7, -13, -14, -15, -16, -24, -25, tryptase, trombina, plasmina
MMP-9 ou gelatinase B	Colágeno I, IV, V, VII, XI, XIV gelatinas, elastina, fibronectinas, fibrilina, osteonectina, aggrecan, vitronectin, decorin, MBP, plasminogênio, α 2M, IGFBP, TNF precursor, pro-TGF- β , α 1P1	MMP-2, -3, -13 plasmina

Relação entre MMPs e CEC

É reconhecido que os níveis das MMPs nos tecidos saudáveis são baixos ou praticamente indetectáveis, entretanto a alteração dos TIMPs e o desequilíbrio da regulação das MMPs parecem ser importantes na progressão tumoral, uma vez que a expressão destas enzimas é substancialmente aumentada na maioria das neoplasias malignas, apresentando importante ação proteolítica nos processos de degradação e invasão da MEC, da membrana basal e das metástases.

Além disso, as metaloproteinases contribuem para a angiogênese, uma vez que possibilitam a invasão das células endoteliais para a formação de novos vasos sanguíneos, sendo que as MMPs 2 e 9 são as principais enzimas deste

grupo estudadas neste processo[8]. Também existem evidências (estudos em animais) que a diminuição da MMP 9 acarretaria em uma menor hiperproliferação de queratinócitos, e portanto, menor invasão tumoral[8].

A expressão da MMP-2 tem sido relacionada com o potencial de invasão tumoral e metastatização em uma grande variedade de cânceres[17]. No entanto, uma correlação entre a expressão de MMP-2 na progressão e no prognóstico do carcinoma espinocelular cutâneo ainda não foi bem descrita na literatura até o momento[17]. Apesar disso, conforme alguns estudos, a expressão de MMP-2 poderia ser considerada como um preditor para um pior prognóstico[18].

A metaloproteinase tipo membrana 1- MMP (MT1-MMP) foi originalmente identificada como um ativador da MMP-2 e também está relacionada com prognóstico em alguns tipos de cânceres[18]. Além disso, a MT-1 MMP degrada vários componentes da MEC, como o colágeno tipo 1, moléculas que fazem adesão celular como CD44 e assim promove a migração de células[18].

Nos estudos de Fundyler et al.[17] a MMP2 parece ter importante função na degradação da MEC, incluindo a degradação do colágeno tipo IV, representando importante envolvimento no processo de metástase. Esse estudo imunohistoquímico mostra a relação entre a intensidade da coloração em infiltrados inflamatórios e em células de invasão tumoral, sugerindo uma interação entre células inflamatórias e células tumorais, evidenciando a expressão de MMP-2 relacionada à progressão tumoral. Estes resultados relacionando a expressão de MMP-2 em células tumorais

próximas a infiltrados inflamatórios sugerem uma interação entre MMP-2 com células inflamatórias para promover a progressão do carcinoma espinocelular cutâneo.

Em síntese, é provável que a produção e a atividade da MMP-2 esteja relacionada com a presença de atipias, processos inflamatórios, neovascularização, invasão tumoral e metastatização[17].

Novos tratamentos

Alguns ensaios clínicos avaliam atualmente os inibidores sintéticos das metaloproteinases, entretanto estudos em fase III iniciados em 1997-1998 utilizando marimastat (BB2516), prinomastat (AG3340) e o BAY12-9566, utilizados isoladamente ou em conjunto com a quimioterapia para carcinomas de pulmão, próstata, pâncreas, cérebro e trato gastrointestinal, não evidenciam eficácia clínica até o momento[18].

Conclusão

As MMPs e seus inibidores, por influenciarem várias funções celulares, agirem no estroma e serem influenciadas por fatores exógenos, devem merecer atenção especial durante o estudo dos carcinomas cutâneos. Novos estudos devem ser publicados a respeito do assunto, o que tornará mais correta a interpretação das relações entre estes mediadores e o carcinoma epidermóide do tegumento cutâneo-mucoso.

Bibliografia

- Arranz FR, Rubio JFP, Salvado MMV, Sordo VV. Descriptive epidemiology of basal cell carcinoma and cutaneous squamous cell carcinoma in Soria (north-eastern Spain) 1998-2000: a hospital-based survey. *JEADV* 2004;18:137-141.
- Diepgen TL, Mahler V. The epidemiology of skin cancer. *Br J Dermatol* 2002;146:1-6.
- Joseph, MG, Zulueta, WP, Kennedy, PJ. Squamous cell carcinoma of the skin of the trunk and limbs: the incidence of metastases and their outcome. *Aust N Z J Surg* 1992;62:697.
- Mittelbronn MA, Mullins DL, Ramos-Caro FA, Flowers FP. Frequency of pre-existing actinic keratosis in cutaneous squamous cell carcinoma. *Int J Dermatol* 1998;37:677-681.
- Stratigos AJ, Kapranos N, Petrakou E, Anastasiadou A, Pagoulini A, Christofidou E, et al. Immunophenotypic analysis of the p53 gene in non-melanoma skin cancer and correlation with apoptosis and cell proliferation . *JEADV* 2005;19:180-186.
- Hussein MR. Ultraviolet radiation and skin cancer: molecular mechanisms. *J Cutan Pathol* 2005;32:191-205.
- Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins and Cotran Pathologic Basis of disease, 7th ed. Philadelphia, PA, WB Saunders Company, 2004.
- Kerkelä E, Saarialho-Kere U. Review Article Matrix metalloproteinases in tumor progression: focus on basal and squamous cell skin cancer. *Exp Dermatol* 2003;12:109-125.
- Pereira AC, Carmo ED, Silveira VAS, Amadei SU, Rosa LEB. O papel das MMP-2 e -9 no desenvolvimento do carcinoma epidermóide. *Rev Bras Cancerol* 2006;52: 257-262.
- Röwert-Huber J, Patel MJ, Forschner T, Ulrich C, Eberle J, Kerl H, Sterry W, Stockfleth E. Actinic keratosis is an early in situ squamous cell carcinoma: a proposal for reclassification. *Br J Dermatol* 2007;156:8-12.
- Jaeger AB, Gramkow A, Hjalgrim H, Melbye M, Frisch M. Bowen disease and risk of subsequent malignant neoplasms: a population-based cohort study of 1147 patients. *Arch Dermatol* 1999;135:790-793.
- Porter WM, Francis N, Hawkins D, Dinneen M, Bunker CB. Penile intraepithelial neoplasia: clinical spectrum and treatment of 35 cases. *Br J Dermatol* 2002;147:1159-1165.
- Chung VQ, Dwyer PJ, Nehal KS, Rajadhyaksha M, Menaker GM, Charles C, Jiang SB. ORIGINAL ARTICLE Use of Ex Vivo Confocal Scanning Laser Microscopy during Mohs Surgery for Nonmelanoma Skin Cancers . *Dermatol Surg* 2004;30:1470-1478.
- Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*, 6th ed. New York, NY, McGraw-Hill Medical, 2005.

- tology in General Medicine. 6th ed. McGraw-Hill, 2003.
15. Pereira ALA, Veras SSL, Silveira EJD, Seabra FRG, Pinto LP, Souza LB, Freitas RA. O papel das proteínas da matriz extracelular e das metaloproteinases em carcinomas de cabeça e pescoço: uma atualização bibliográfica. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2005;71:81-86.
16. Agren MS. Gelatinase activity during wound healing. *Br J Dermatol* 1994; 131:634-640.
17. Fundyler O, Khanna M, Smoller BR. Metalloproteinase-2 expression correlates with aggressiveness of cutaneous squamous cell carcinomas. *Mdern Pathology* 2004; 17:496-502.
18. Yoshizaki T, Sato H, Furukawa M. Recent advances in the regulation of matrix metalloproteinase 2 activation: from basic research to clinical implication (Review). *Oncol Rep* 2002;9:607-611.