

## CARDIOLOGIA DEL ADULTO - REVISION DE TEMAS

### La íntima

#### Parte II de V

GUSTAVO BARRIOS, DDS; JORGE LEON, MD; FABIO RODRIGUEZ, MD, M.Sc; MAGALI DE LOS RIOS, MD; HERNANDO DEL PORTILLO, MD

Bogotá, DC, Colombia.

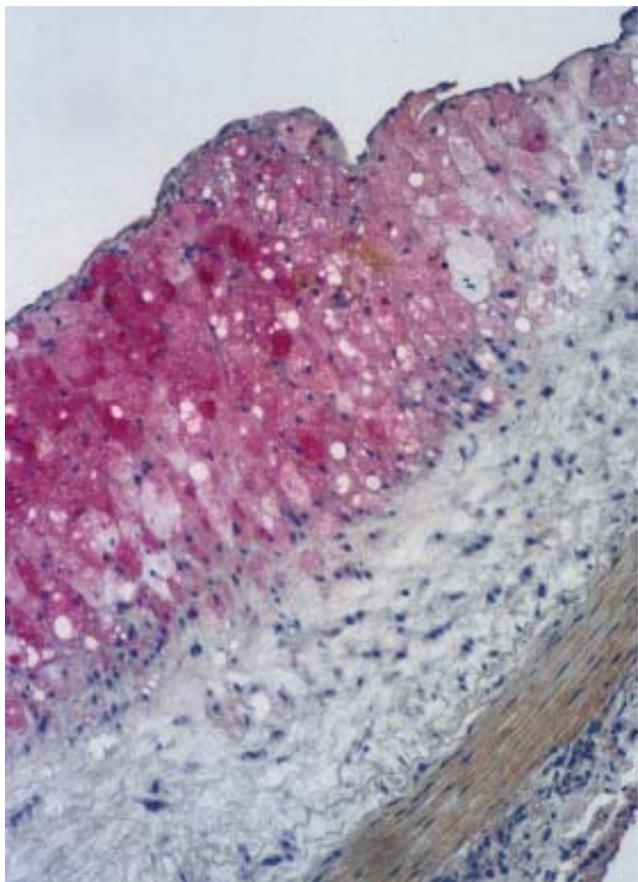
#### Formación de la íntima

El conocimiento de la íntima tiene una importancia inusitada en el área de la patología, por ser asiento del ateroma, lesión característica de la aterosclerosis. La placa ateromatosa se desarrolla solamente en el microambiente de la íntima, que se aprecia únicamente en arterias y arteriolas. El ateroma está compuesto por una mezcla de las llamadas células espumosas (cargadas de lípidos), lípidos extracelulares, células musculares lisas, fibroblastos, proteoglicanos, depósitos de calcio, colágeno y fibras elásticas (Figura 5). La estructura del ateroma ha sido estudiada en forma exhaustiva y teniendo en cuenta su evolución y progresión se han encontrado 8 estadios que describen su historia natural: lesión tipo I, (presente en la primera década, que ostenta células espumosas); lesión tipo II, (mayor cantidad de contenido lipídico presente en macrófagos y células musculares lisas); lesión tipo III, de la tercera década, (con presencia de lípidos extracelulares); lesión tipo IV, donde se aprecia un corazón lipídico; lesión tipo V, presente en la cuarta década, con evidencia de células musculares lisas y aumento en el colágeno; lesión tipo VI, con tendencia a la formación de hematoma y trombo, por fractura de la placa; lesión tipo VII, presente a partir de la quinta década con evidencia de mineralización; y lesión tipo VIII, caracterizada por predominio del colágeno y ausencia o presencia lipídica mínima (Touboul y Crouse) (56) (Figura 6).

A pesar de lo mucho que se conoce acerca de la placa ateromatosa, el conocimiento de la íntima es escaso.

Miembros Colegio Panamericano del Endotelio. Fundación Santafé de Bogotá. Sección de Cardiología. Universidad El Bosque, Facultad de Medicina. Clínica de la Policía. Bogotá, D. C., Colombia.

Correspondencia: Gustavo Barrios, DDS, Avenida 116 No. 14A-36 Cons. 201, Tels.: 2136032 - 2136072, E-mail: g\_barrrios90@hotmail.com, Bogotá, D.C., Colombia



**Figura 5.** Microscopía de luz donde se aprecia la presencia de macrófagos y células espumosas, en un modelo experimental de una aorta abdominal de un conejo hipercolesterolémico (Nueva Zelanda). Se utilizó una técnica histoquímica doble: coloración RAM-11 para macrófagos (rojo) y para actina de células de músculo liso vascular (café). Se detalla el recubrimiento endotelial intacto y la captación lipídica de diferentes grados por los macrófagos subendoteliales (células espumosas). Debajo de ellos se aprecia una población constituida posiblemente por células musculares lisas neoformadas y macrófagos en proceso de diferenciación. En la parte inferior derecha se observa el aspecto en serpentina que corresponde a la túnica o lámina elástica interna y en directo contacto con ella una banda conformada por células musculares lisas maduras e inactivas. Material del Laboratorio del profesor Darío Echeverri A. Instituto Cardioinfantil. Bogotá. Colombia.

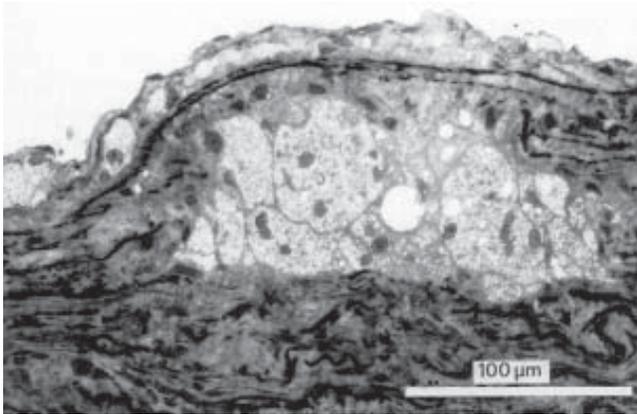


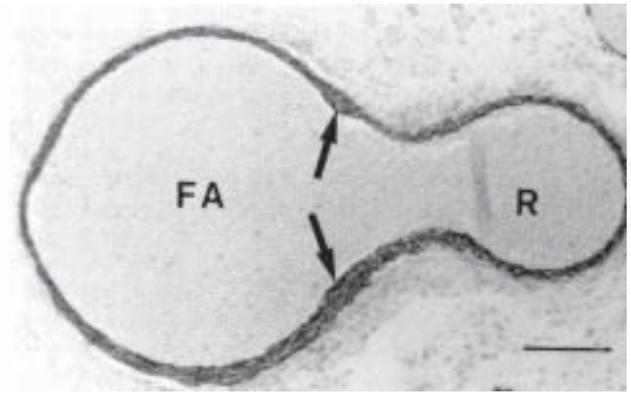
Figura 6a.



Figura 6b.

**Figura 6a.** Microscopía del aspecto morfológico de la aorta de un conejo Watanabe (con aterosclerosis hereditaria). Se observa que debajo de la capa endotelial intacta, hay una población importante de células espumosas. Tomado de Kuhn H. En Lüscher TF. *Endothelial Vasoactive Substances and Cardiovascular Disease*. Karger. 1988. p 82. **6b.** La macrofotografía muestra el aspecto de la aorta del conejo apoE que muestra lesiones ateroscleróticas a los cuatro meses de ser sometido a una dieta hipercolesterolémica. Las aortas se tiñeron con Sudan IV para visualizar los depósitos lipídicos. Tomado de van Berkel TJC, van Eck M, Herijgers N, Hoogerbrugge PM, Groot PHE. En van der Wall EE, Cats VM, Baan J. (Eds). *Vascular Medicine. From Endothelium to Myocardium*. Kluwer Academic Publishers. 1997. p 221.

En el momento del nacimiento, la íntima de las arterias humanas escasamente consiste del recubrimiento endotelial con su basal, reposando directamente sobre la túnica elástica interna. A esta estructura rudimentaria, algunos investigadores le dan el nombre de íntima simple. En el humano se ha apreciado engrosamiento excéntrico de la íntima (cojinete de la íntima), desde la primera semana del nacimiento. Estos cojinetes de la íntima se han evidenciado aun en el periodo prenatal (Figura 7). En



**Figura 7.** La microscopía muestra un corte transversal de la bifurcación de una arteria femoral de un feto de 14 semanas de gestación. Se aprecia el engrosamiento de la pared vascular formando lo que se denomina "cojinete" del vaso sanguíneo. Tomado de Kockx MM. *Spontaneous and Induced Intima Formation in Blood Vessels*. RG Landes Company. 1995. p 12.

edad temprana, la íntima se va conformando por la presencia de las células musculares lisas, el colágeno, las fibras elásticas y los proteoglicanos. Arbitrariamente, se considera que la íntima comprende el endotelio con su basal, la población subendotelial que cohabita dentro de una Matriz Extracelular (MEC) especial y la túnica elástica interna, constituida por una cortina importante de fibras elásticas. El grosor de la íntima aumenta progresivamente con la edad en condiciones de normalidad. El espesor de la íntima aumenta anormalmente cuando la estructura sufre cualquier tipo de agresión. Entonces hablamos de la formación de una neoíntima, que implica patología. Pero no existe un límite nítido entre el espesor de la íntima normal y la iniciación de la neoíntima.

Kockx (30), es uno de los investigadores más sobresalientes en el estudio de la íntima. Este investigador ha estudiado el comportamiento embrionario de la íntima y su fisiopatología. Tempranamente en embriogénesis hay una migración de las células musculares lisas embrionarias de su hábitat normal en la media, al espacio subendotelial de la íntima simple. La célula muscular lisa en esta etapa de la embriogénesis, produce fibras elásticas que posteriormente se van a presentar en la MEC de la íntima y además sintetiza la túnica elástica interna y la MEC de la íntima (Figura 8). El tejido elástico en general se forma en un periodo de 9 meses: durante el último trimestre de vida intrauterina y durante los 6 meses siguientes al nacimiento. La túnica elástica interna se va conformando como una estructura sólida compuesta por gran cantidad de fibras elásticas que finalmente separan la

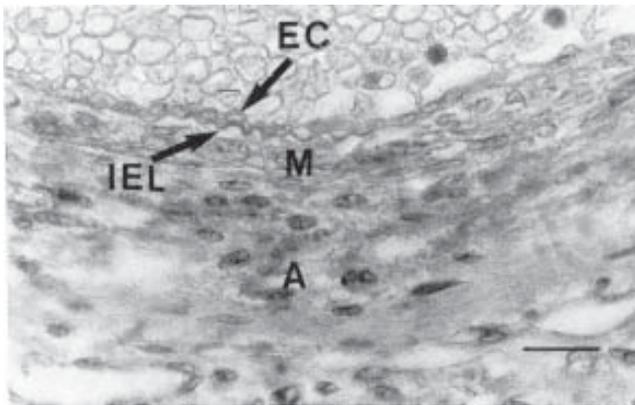


Figura 8a.



Figura 8b.

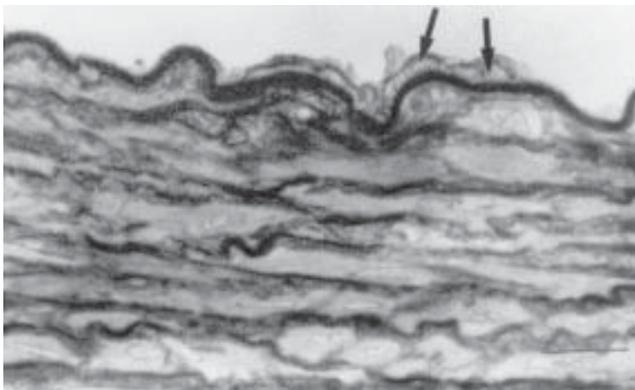


Figura 8c.

**Figura 8a.** Microfotografía (gran aumento) de una arteria femoral de un feto de 14 días de gestación donde se aprecian las células endoteliales reposando sobre la túnica elástica interna, que ya puede ser identificada. **8b.** Microfotografía de una arteria poplítea de un niño de un año. Entre el endotelio y la túnica elástica interna ya es posible identificar la presencia de células fusiformes que anuncian la iniciación del engrosamiento de la íntima. Estas células son inmunorreactivas para la actina, característica de la célula muscular lisa. **8c.** La microscopía ilustra una arteria carótida donde se aprecian las células endoteliales reposando sobre células musculares lisas que la separan de la túnica elástica interna. La coloración de Verhoeff para tejido elástico, demuestra la formación temprana de bandas de tejido elástico prominente, que “encarcelan” células musculares lisas. Tomado de Kockx MM. Spontaneous and Induced Intima Formation in Blood Vessels. RG Landes Company. 1995. a, p 12; b, p 14; c, p 24.

íntima de la media, impidiendo cualquier tráfico celular. En el momento en que se inicia la formación de la túnica elástica interna, se interrumpe el tráfico celular. En la íntima permanecen cohabitando células indiferenciadas, predeterminadas y multipotentes, con características adquiridas de las células musculares lisas primitivas y de las células de linaje hematopoyético. Estas células indiferenciadas de la íntima permanecen como células *stem*, células comprometidas y predeterminadas, durante toda la vida del individuo en un estado de “adormecimiento”, pero proliferan y se diferencian en células musculares lisas, fibroblastos y células macrofágicas, frente a cualquier agresión iatrogénica, traumática, metabólica, inmunológica, viral o bacteriana. Aproximadamente a los 20 años de edad termina la síntesis del esqueleto elástico de la íntima y por tanto, podemos decir que ha culminado su formación definitiva. Fisiológicamente los cambios del armazón elástico de la íntima son mínimos porque el tejido elástico del organismo es una de las estructuras más estables. Lo mismo ocurre en la piel y en el pulmón. El tejido elástico de la íntima tiene dos características fundamentales: 1. Frena el crecimiento desordenado del conectivo de la íntima y 2. Al desintegrarse por acción de las elastasas producidas por los fibroblastos, los macrófagos y las CE, cuando se inicia la patología, los productos de desintegración de la elastina muestran comportamiento antigénico, lo cual ha llevado a Robert (52) a plantear la hipótesis autoinmune del desarrollo de la aterosclerosis.

Las venas del adulto normal muestran un desarrollo pobre de la íntima (íntima simple). Cuando una vena es transplantada a la circulación arterial, desarrolla una neoíntima con tendencia a la acumulación lipídica y desarrollo de la aterosclerosis. Si no hay formación de una neoíntima, el ateroma no se desarrolla. La formación de la neoíntima se puede observar espontánea, experimental o iatrogénicamente.

El engrosamiento de la íntima en arterias humanas se ha identificado en ciertos casos en al primera semana de vida. Muchos investigadores describen un engrosamiento excéntrico de la íntima, al que le han dado el nombre de cojinete de la íntima, que se presenta en las ramificaciones y en los orificios de las bifurcaciones arteriales. La mayoría de los investigadores considera esta estructura normal, que no va a favorecer el desarrollo de la aterosclerosis en el individuo adulto. Sin embargo, en

algunos individuos este es el sitio futuro del desarrollo de la aterosclerosis. El engrosamiento difuso de la íntima que se presenta en el humano no sucede en las especies animales, que no desarrollan espontáneamente la aterosclerosis. En el cerdo, la estructura de la aorta y de la arteria coronaria es parecida a la del hombre y este animal desarrolla lesiones parecidas a la aterosclerosis humana durante el envejecimiento, o en animales jóvenes como respuesta a la ingesta lipídica aumentada. La aterosclerosis espontánea es frecuente en palomas, pavos y pollos. En la paloma Carneau, la aterosclerosis espontánea de la aorta es muy frecuente. La iniciación de la lesión exige la presencia de la neoíntima.

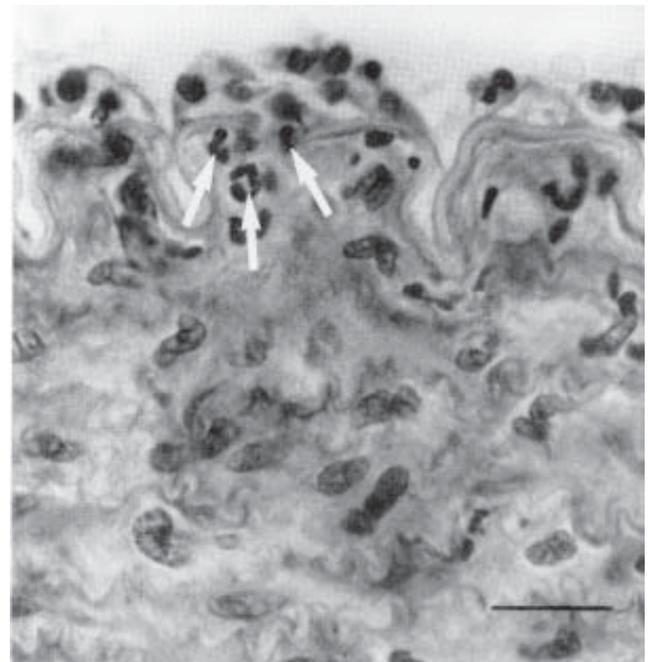
La ligadura de una arteria conduce al engrosamiento de la íntima en los dos extremos de la ligadura. La colocación de un anillo de silicona, por ejemplo a la arteria carótida, lleva a la formación de una neoíntima por proliferación de células musculares lisas principalmente. Anitschkow (1913), demostró que el conejo alimentado con dosis altas de colesterol, desarrollaba lesiones aórticas muy parecidas a las del ateroma humano.

En el humano se aprecia formación de la neoíntima post-angioplastia, en fístulas arteriovenosas para diálisis, en injertos aortocoronarios de vena safena y en el trasplante cardiaco.

A las 10-24 semanas de gestación se observa que las células endoteliales reposan directamente sobre la túnica elástica interna sin presencia de población celular o de fibras colágenas. En el primer año de vida se observa la formación de los cojinetes de la íntima compuestos por células musculares lisas, inmunorreactivos a la actina alfa de la célula muscular lisa. Entre los 18 y los 30 años de edad se aprecia en el subendotelio la presencia de fibras musculares lisas, longitudinales y fibras colágenas. Se piensa que en la remodelación de la pared arterial y de la túnica elástica interna influyen por lo menos dos factores: el aumento importante de la presión sanguínea en la circulación sistémica después del nacimiento y el crecimiento corporal que ocasiona estiramiento del vaso sanguíneo. Durante la etapa de formación de la túnica elástica interna se aprecian discontinuidades de la misma. Las células musculares lisas de la media están envueltas en una basal, producida por ellas mismas y rodeada por una red densa de fibras colágenas y elásticas que de manera nítida individualizan las células musculares. Las células musculares de la íntima tienen una

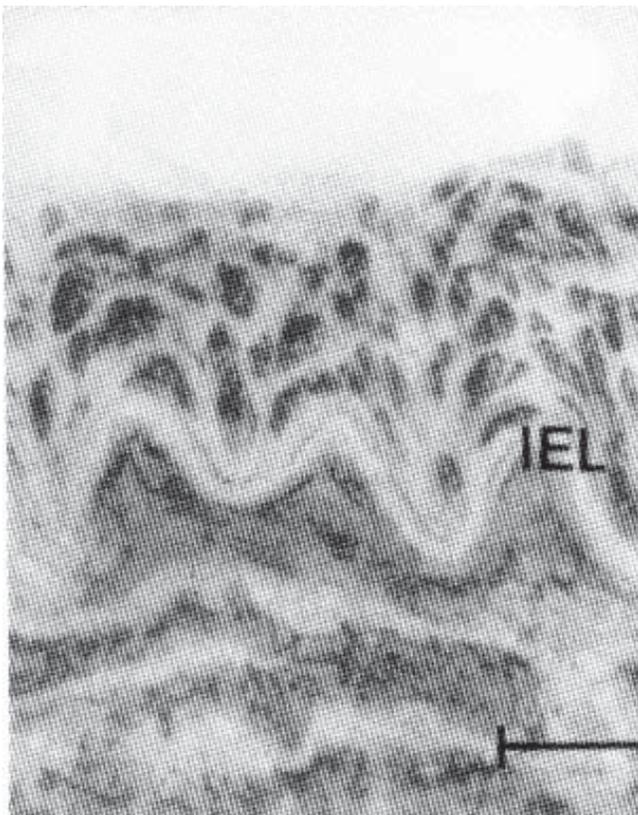
orientación longitudinal, paralelas con la del recubrimiento endotelial y de la capa interna de la media, posiblemente como consecuencia de la hemorreología. Como se mencionó anteriormente, se aprecia engrosamiento difuso de la íntima en el transcurso de la vida. Tanto el engrosamiento difuso de la íntima como los cojinetes de la íntima se consideran como sitios predilectos para el desarrollo de la aterosclerosis.

Al agredir la íntima con la técnica del balón, que se introduce con un catéter, se infla y se mueve hacia adelante y hacia atrás, o al colocar un anillo de silicona alrededor de la arteria, se produce un engrosamiento importante de la íntima. Igualmente, la íntima se engrosa cuando hay estimulación eléctrica en la adventicia, compresión externa, o denudación de la adventicia. Kockx (30) colocó anillos flexibles y blandos de silicona en la carótida de conejos blancos machos, de Nueva Zelandia, sin causar compresión. A las dos horas se apreció pavimentación del endotelio por polimorfonucleares; a las 6 horas los polimorfonucleares estaban localizados subendotelialmente y los mismos leucocitos habían penetrado la túnica elástica interna y se les apreciaba en el tercio interior de la media (Figura 9); a las 12 horas habían

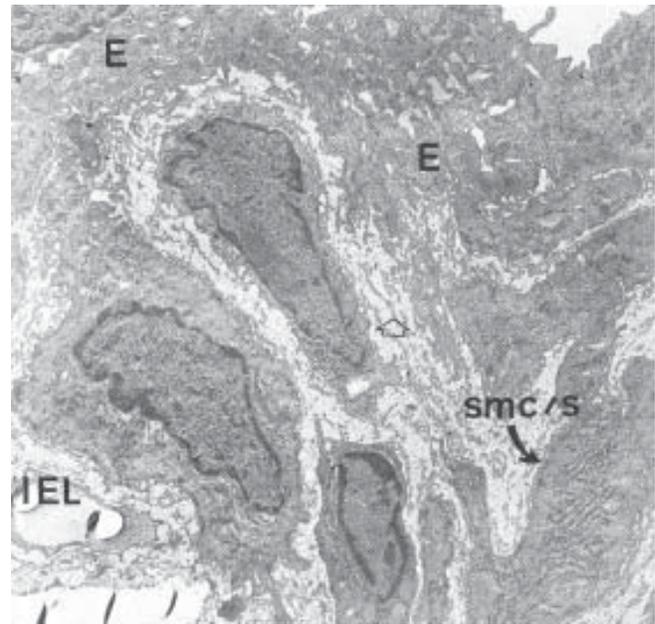


**Figura 9.** La microfotografía muestra el infiltrado de polimorfonucleares (flechas) al subendotelio y a la parte interior de la media a las 6 horas de colocado un manguillo de silicona alrededor de la arteria carótida, en un conejo. Tomado de Kockx MM. Spontaneous and Induced Intima Formation in Blood Vessels. RG Landes Company. 1995. p 34.

progresado hasta la parte media de la media y se observaba un infiltrado moderado de polimorfonucleares en la adventicia; a los tres días empezaba a disminuir el infiltrado de neutrófilos; a los cinco días se apreciaba presencia de células musculares lisas con orientación longitudinal en la íntima, claramente diferentes en fenotipo a la célula muscular lisa de la media; a los 14 días se observaba la acumulación subendotelial de células musculares lisas organizadas en 2-5 capas, presencia de fibras elásticas cortas en la neoíntima y reendotelización; a los 30 días se observó una neoíntima concéntrica con 5-6 hileras de células musculares lisas y una capa de tejido celular fibroso en la adventicia. También se observó presencia de fibronectina. La proliferación de células musculares lisas, de fenotipo diferente al de la media, era evidente en la vecindad de la cara de la túnica elástica interna que mira a la luz del vaso (Figura 10). Las células musculares lisas de la neoíntima ostentaban fenotipo sintético. (Figura 11).



**Figura 10.** Microfotografía que muestra las células musculares lisas, (inmunorreactivas positivas para alfa-actina), que a los 14 días han proliferado exuberantemente en la cara de la túnica elástica interna que mira hacia la luz del vaso. Tomado de Kockx MM. Spontaneous and Induced Intima Formation in Blood Vessels. RG Landes Company. 1995. p 39.



**Figura 11.** Microscopía electrónica de transmisión que muestra las células musculares lisas de la neoíntima con características de fenotipo sintético: ostentan un retículo endoplásmico rugoso importante. Los espacios intercelulares son amplios, electrolúcidos y contienen material gránulo-fibrilar (cabezas de flecha). Las células endoteliales muestran uniones intactas. E: endotelio; IEL: lámina elástica interna; SMC/S: célula muscular lisa en estado sintético. Tomado de Kockx MM. Spontaneous and Induced Intima Formation in Blood Vessels. RG Landes Company. 1995. p 41.

Resumiendo, esta investigación de Kockx (30) demuestra tres fases cuando se agrede iatrogénicamente la adventicia: 1. Infiltración temprana por PMNs en la íntima; 2. Replicación de las células musculares lisas de la media y 3. Acumulación subendotelial gradual de las células musculares lisas con depósitos de fibras colágenas y de fibronectina en la neoíntima en formación. Kockx plantea la posibilidad de que las células musculares lisas presentes en la neoíntima pueden provenir de células indiferenciadas, presentes en la íntima. Las células musculares lisas de la neoíntima tenían un arreglo longitudinal, paralelo al de las CE, siguiendo la dirección del flujo sanguíneo. Las células musculares lisas exteriores de la media tenían una orientación circular.

Se observó presencia de fibronectina en áreas de crecimiento celular intenso y los estudios recientes de investigación indican, que esta macromolécula de la MEC es esencial para la migración celular, la adherencia y la proliferación. La presencia de fibronectina en la íntima ha sido identificada en condiciones de normalidad y durante la hiperplasia de la íntima, especialmente relacionada con la

formación de placas fibrosas humanas, lo mismo que en lesiones ateroscleróticas inducidas experimentalmente. El colágeno presente en la neointima es de tipo IV. La presencia de las fibras colágenas en la neointima a la altura del día 14, demuestra que ellas son sintetizadas por la célula muscular lisa en proceso de proliferación.

Se ha sugerido que la neointima obedece a fenómenos de hipoxia, como resultado de la obstrucción de los *vasa vasorum*. En el subendotelio, en la neointima, se ha demostrado la presencia del factor von Willebrand (vWF), que se va reduciendo con el tiempo. A las 12 semanas ya no se aprecia el depósito de vWF. El investigador no ha dado una explicación clara a la presencia del vWF en la neointima, pero sugiere que posiblemente la presencia del vWF puede contribuir a la multiplicación y migración de la célula muscular lisa.

Cuando se realizan injertos de vena safena, en las primeras horas se aprecia un depósito de fibrina y plaquetas con adherencia de PMNs muy evidente. Las CEs se descaman. A las 24 horas la infiltración de PMNs es más pronunciada y llega a la capa circular de la media. A los 4-10 días la infiltración de neutrófilos desaparece. La capa circular exterior se aprecia considerablemente alterada: la mayoría de las células musculares lisas es necrótica. Se piensa que la infiltración de PMNs, está asociada con la descamación de las CEs y por ser de duración corta se considera como un epifenómeno, sin influencia sobre la modulación fenotípica de la célula muscular lisa de la íntima y de la media. La hiperplasia de la íntima en estos injertos venosos, está compuesta principalmente por células musculares lisas y fibras colágenas. En la pared de la media también se aprecian células musculares lisas en apoptosis y depósitos de vWF. Con frecuencia se observa formación de trombos sobre la neointima de estos injertos de vena safena.

La hiperplasia de la neointima en el conejo hipercolesterolémico, acusa principalmente acumulación de macrófagos subendotelialmente, que se transforman en las llamadas células espumosas. Sobre ellas y entre ellas se observa el depósito de vWF. Posteriormente, la colonia de células espumosas es infiltrada por células musculares lisas, que sintetizan fibras de colágeno, lo cual conduce a la transformación de la placa compuesta principalmente por células espumosas, a la placa fibrosa. Es muy posible que el vWF actúe como quimioatrayente para las células musculares lisas (40).

Como se mencionó anteriormente, la vena normal del humano, no tiene una íntima bien caracterizada. Sin embargo, cuando se injerta en un circuito arterial, la vena desarrolla una hiperplasia de la íntima que puede obedecer a dos factores: el trauma iatrogénico ocasionado por su remoción del lecho nativo y cambios en la hemorreología. Las plaquetas adheridas a la íntima desprovista de endotelio, pueden ser fagocitadas por los macrófagos presentes en la íntima, iniciando la formación de las células espumosas y el proceso de formación de la placa ateromatosa en la vena transplantada (30).

De lo que hemos descrito hasta el momento, podemos concluir que la íntima sufre hiperplasia frente a diferentes estímulos y que la célula clave en la formación de la neointima es la célula muscular lisa, diferenciada posiblemente a partir de células embrionarias, presentes en la íntima, comprometidas y predeterminadas. Estas células musculares lisas secretan la MEC en exceso, característica de la placa ateromatosa. Las células musculares lisas de la neointima tienen un fenotipo diferente al de la célula muscular lisa de la media y ostentan receptores "carroñeros" (scavenger); en estas condiciones son similares a las células espumosas y contribuyen a la formación del núcleo lipídico de la placa. La formación de la neointima se puede considerar como un mecanismo de defensa de la media, que funciona adecuadamente. Este mecanismo defensivo, protege la integridad del huésped durante toda su vida. Por ejemplo, se ha observado que el desarrollo de la hiperplasia de la íntima de las arterias de miembros inferiores en humanos, puede tomar más de 20 años. El desarrollo de la hiperplasia de la vena safena humana transplantada sucede en un periodo más corto, conduciendo a la oclusión de la vena transplantada (30).

### **Metaloproteinasas (MMPs) e inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs)**

El tema de la función cumplida por las MMPs en el desarrollo de la fisiopatología de la aterosclerosis no ha recibido la atención que merece. La función básica de las MMPs es la de desintegrar los más de mil compuestos macromoleculares que integran la MEC (fibras elásticas, 21 variedades de colágenos, proteoglicanos y glicoproteínas) para permitir la proliferación celular, característica de la formación del ateroma. Las MMPs desintegran la MEC solamente hasta el punto crítico necesario que permita este fenómeno biológico. Por

ejemplo, si la adventicia sufre una agresión severa, la íntima es pavimentada por neutrófilos a las dos horas, los cuales llegan a la media con el propósito de desintegrar la MEC e iniciar el proceso reparativo. Cumplida su función, los neutrófilos desaparecen a los tres días. Si la agresión es crónica, como en el caso de la iniciación del ateroma, el primer paso en este proceso biológico también es la desintegración de la MEC que permite la proliferación del tejido intimal. La célula endotelial, los macrófagos, los fibroblastos y la célula muscular lisa neoformada, cumplen esta función sintetizando las MMPs necesarias. Si la MEC no es desintegrada, las células que conforman el ateroma no podrían proliferar por simple falta de espacio. Al iniciarse la desintegración de la íntima por acción de las MMPs las células que cohabitan en ella captan el cambio en la viscoelasticidad del tejido intimal e inician su proliferación.

La remoción espacial y temporal y el remodelado del tejido conectivo son eventos críticos para lograr procesos de desarrollo, homeostasis y reparación en el huésped (Parks y Mecham) (43). Estas proezas biológicas las logran las enzimas denominadas metaloproteinasas. Por ejemplo, la familia de la serina-proteinasas, que incluye la elastasa leucocitaria y el plasminógeno y sus activadores, entre otras enzimas, están comprometidas en la disolución del coágulo y en la destrucción tisular.

Las MMPs de la MEC comprenden una familia de enzimas relacionadas entre sí, que tienen la habilidad de degradar todos los componentes de la MEC. Las funciones de las MMPs incluyen procesos biológicos tales como el desarrollo embrionario, la inflamación, la cicatrización de heridas, ciertas patologías (endometriosis, artritis reumatoidea, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, cáncer) y ciertas patologías vasculares (ateroesclerosis, aneurismas).

Woessner en Parks y Mecham (43) menciona los siguientes procesos normales y patológicos en los cuales las MMPs están comprometidas. Desarrollo: implantación del blastocisto, desarrollo embrionario, crecimiento del nervio, remoción del cartílago de crecimiento, crecimiento óseo esquelético, maduración del esmalte y reabsorción de la dentadura primaria; Reproducción: actividad cíclica del endometrio, ruptura del folículo de Graaf, luteolisis, dilatación cervical, involución del útero post-parto, morfogénesis e involución de la glándula mamaria y ruptura de las membranas fetales; Manteni-

miento: remodelado óseo, ciclo del folículo piloso, cicatrización de heridas, angiogénesis, apoptosis, regeneración del nervio, función macrofágica y función neutrofílica; Destrucción tisular: artritis reumatoidea, osteoartritis, invasión cancerosa, metástasis, úlcera por decúbito, úlcera gástrica, ulceración de la córnea y enfermedad periodontal; Enfermedades fibróticas: cirrosis hepática, enfermedad pulmonar fibrótica, otoparesclerosis, aterosclerosis y esclerosis múltiple; Debilitamiento de la matriz: miocardiopatía dilatada, epidermolisis bulosa y aneurismas.

Las MMPs (y sus inhibidores), están íntimamente relacionadas con el desarrollo fetal del ser humano desde el momento en que el acrosoma viola la zona pelúcida hasta el momento en que las membranas fetales se desprenden junto con la placenta de su lecho uterino. En efecto, las MMPs intervienen en la fecundación, la implantación, la placentación y la decidualización. Además, las MMPs intervienen en los procesos de ovulación, ciclo menstrual, desarrollo e involución de la glándula mamaria, e involución uterina.

El huésped juega con diferentes sistemas de activación e inhibición, con el propósito de mantener la homeostasis del organismo. Si el órgano endotelial produce factores vasodilatadores, el mismo órgano endotelial también sintetiza autacoides que tienen un efecto contrario: producen vasoconstricción. Igualmente los tejidos del huésped sintetizan factores de crecimiento e inhibidores de los mismos. Las MMPs son controladas a su vez por los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs).

La autonomía no existe en el funcionamiento del organismo humano. Todos los sistemas están interrelacionados. Esta es la *raison d'être* de la psico-neuro-inmunología. Por tanto, se aprecia que las MMPs están integradas con neuropéptidos y neurotransmisores, factores de crecimiento, hormonas, citoquinas, interleuquinas, autacoides, proteínas de la fase aguda, el TNF-alfa, el tPA y el uPA.

Las células del nicho intimal respetan dos leyes biológicas:

1. Las células del mismo tipo se buscan y se relacionan entre sí, valiéndose de su glicocáliz común y tienen programas de actividad génica idénticos. La superficie de la célula tiene un glicocáliz compuesto por

glicoproteínas estructurales y enzimas como la glicosiltransferasa, que participa en el reconocimiento y especificidad celular. Las células del mismo tipo tienen tendencia a asociarse unas con otras, gracias a su membrana celular, mostrando preferencia jerárquica entre más se parezcan y la información que percibe su membrana celular finalmente dispara la activación de moléculas reguladoras de genes específicos en el genoma. Las células se reconocen entre sí y se comunican por medio de señales intercelulares (*cross talk*). Es obvio que estos factores extracelulares solamente operan cuando el organismo se hace multicelular. Hoy se piensa, que el citoplasma controla la diferenciación de elementos unicelulares como el oocito o el cigoto y aun células embrionarias tempranas. Todos estos fenómenos biológicos han sido estudiados en la *Drosophila melanogaster*.

2. Las células del mismo linaje y función comparten las mismas moléculas de adherencia, integrinas, cadherinas, desmosomas, *gap junctions*, antígenos y receptores de membrana. Los cationes divalentes (calcio y magnesio), juegan un papel fundamental en la adhesión celular. Esta ley biológica comanda el fenómeno de la metástasis.

Las células epiteliales y las células endoteliales (CEs) obedecen la misma ley biológica. En efecto, las CEs en cultivo se unen entre sí a las pocas horas de la siembra, ostentan claramente la inhibición por contacto y la haptotaxis y forman una estructura confluyente típica diferente, por ejemplo, a la que se aprecia en el cultivo de pericitos.

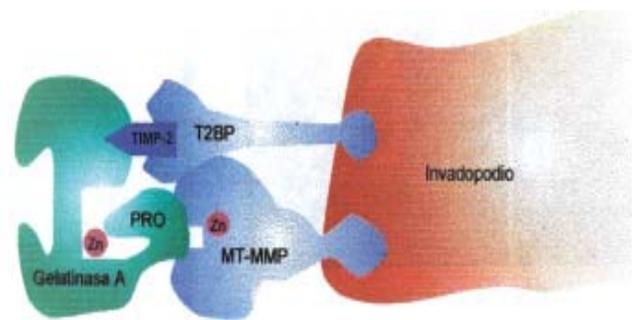
La acción de las MMPs ha sido identificada por el investigador en situaciones fisiológicas tales como el remodelado óseo, la involución uterina post-parto y la embriogénesis y en procesos patológicos: úlcera por decúbito, cáncer y artritis. En 1962 Gross y Lapière, demostraron que la piel de la cola de la rana en proceso de reabsorción en metamorfosis, al cultivarse en gelatinas de colágeno, liberaba una enzima que desintegraba la triple hélice del colágeno: la colagenasa. Esta misma observación la comprobaron al cultivar piel embrionaria, tejido uterino post-parto y hueso (Woessner y Nagase) (59).

El colágeno es una proteína de la MEC que tiene un recambio (*turnover*) muy bajo y que es muy difícil de digerir por un repertorio amplio de enzimas proteolíticas.

La explicación es que su estructura helicoidal de la triple hélice no facilita el acceso de las proteinasas para desintegrarla. La colagenasa es la única enzima capaz de realizar esta proeza biológica. La colagenasa 1 (MMP-1) digiere el colágeno tipo III del conejo, cinco veces más rápido que el colágeno tipo II y el colágeno tipo I del vacuno cinco veces más rápido que el colágeno tipo II.

Actualmente se reconocen más de 200 MMPs, la mayoría de las cuales dependen del ión zinc localizado en el centro activo de su función catalítica (Figura 12). Los estudios de investigación han identificado la presencia de la colagenasa 1 (MMP-1) en el ligamento periodontal, la piel, el hueso y la sinovial de pacientes con artritis reumatoidea. La colagenasa 2 (MMP-8) es propia de los neutrófilos y se encuentra localizada en los gránulos específicos para ser liberada en los eventos de fagocitosis. Pero esta colagenasa 2 (MMP-8) no es exclusiva de los neutrófilos, también se le encuentra en los condrocitos osteoartrotríticos, en los fibroblastos sinoviales y en las células endoteliales.

Las MMPs se han agrupado en varias familias: colagenasas, matrixinas, gelatinasas y MMPs asociadas a membranas celulares. Las matrixinas constituyen un grupo interesante de enzimas que tiene un dominio catalítico central y están organizadas con otros dominios adicionales: péptido de señal, propéptido inserto para el sitio de rompimiento de la purina, dominio catalítico, repeticiones parecidas a la fibronectina, región de bisagra, dominio de hemopexina y extensión de inserción de



**Figura 12.** El esquema ilustra el mecanismo celular para la activación de la progelatinasa A. La superficie celular envía una prolongación citoplasmática parecida al lamelipodio a la cual se le ha dado el nombre de invadopodio que lleva los diferentes elementos que participan en la reacción enzimática (TIMP-2, PRO, Zn) que van a activar la gelatinasa A con intervención del ión zinc. El proceso puede activarse e inactivarse según las necesidades. Original de Yu AE, Murphy AN, Stetler-Stevenson WG. En: Matrix Metalloproteinases. Parks WC, Mecham RP. (Eds). Academic Press. 1998. p 91.

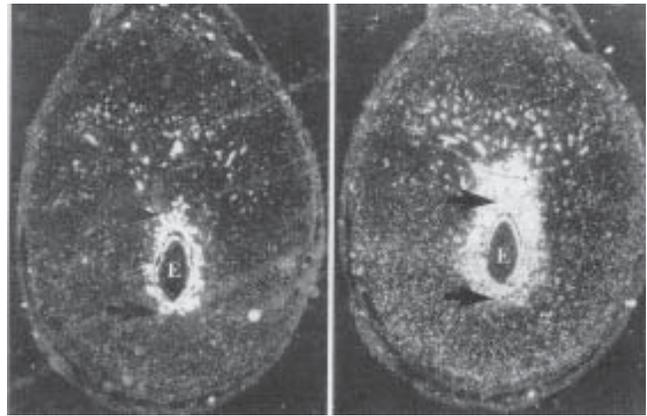
membrana (Weosner en Park y Mecham) (43). El mismo investigador opina que la MEC ostenta más de 100 componentes macromoleculares: colágenos, proteoglicanos y glicanos. La célula depende de manera importante de su batería de MMPs para manejar su medio ambiente, moverse en él y proteger su propio espacio. Por ejemplo, la MMP-1 degrada los colágenos tipo I, II, III y X, la gelatina tipo I, la antiproteasa antitripsina alfa-1 y sus propios zimógenos (Jeffrey en Parks y Mecham) (43).

La estromalisina 1 (MMP-3) y la estromalisina 2 (MMP-10) están íntimamente relacionadas y pertenecen a la familia de las matrixinas. Y son sintetizadas como pro-enzimas y secretadas como pro-enzimas (pro-MMP-3 y pro-MMP-10). La estromalisina 1 (MMP-3) digiere varios componentes de la MEC cuyos sustratos son la tenacina, la vitronectina, el perlecan, el versican, la laminina, la elastina y la interleuquina 1 beta.

La gelatinasa A degrada la fibronectina y la laminina. Su actividad puede generar fragmentos proteolíticos que estimulan el movimiento celular. La secreción de gelatinasa A puede crear un gradiente de estímulos quimiotácticos y aptotácticos que promueven y dirigen la migración celular (Yu et al en Parks y Mecham) (43).

La gelatinasa B se expresa en el trofoblasto, los osteoclastos, los neutrófilos y los macrófagos. Durante la implantación el trofoblasto embrionario invade el epitelio uterino. Este proceso implica una degradación extensa de la MEC y el remodelado tisular. La evidencia investigativa indica que la gelatinasa B es la más importante en este proceso. En el embrión del ratón en proceso de implantación se aprecia la expresión del mRNA de la gelatinasa B solamente en las células trofoblásticas. Es interesante observar la expresión del TIMP-3 en las células maternas que rodean las células embrionarias invasoras (Figura 13). La gelatinasa B también se expresa en el endodermo parietal donde puede jugar un papel importante en la expresión de la membrana de Reichert (Behrendtsel y Werb citados por Vu y Werb en Parks y Mecham) (43).

Los investigadores han identificado 7 MMPs homólogas en el nematodo *Caenorhabditis elegans*. Este nematodo tiene un número celular fijo y pierde un número también fijo de células durante su proceso de desarrollo, lo cual ha permitido estudiar el fenómeno biológico de la apoptosis.



**Figura 13.** Durante la implantación el trofoblasto embrionario invade el epitelio uterino. Este proceso exige la degradación extensa de la MEC y el remodelado tisular. La gelatinasa B es la MMP más importante en este proceso. Al mismo tiempo hay expresión considerable del TIMP-3 por las células maternas que rodean las células embrionarias invasoras. La microscopía electrónica muestra los resultados de las hibridaciones *in situ* con pruebas antisentido con gelatinasa B y TIMP-3 a los 7.5 días de implantación en el ratón. Las flechas indican la extensión de la invasión trofoblástica en la decidua materna. E=embrión. Tomado de Vu TH, Werb Z. En: Matrix Metalloproteinasas. Parks WC, Mecham RP. (Eds). Academic Press. 1998. p 129.

La destrucción de la MEC no es un fenómeno de degradación incontrolada. En efecto, la célula no pierde el control de la síntesis y secreción de las MMPs. La célula sintetiza y libera las MMPs en respuesta a señales muy bien definidas cuando se necesita la degradación de la MEC. Se ha observado que muchas de estas MMPs una vez liberadas permanecen inactivas en la vecindad de las células en la MEC para ser liberadas inmediatamente la célula capta una agresión tisular; es decir, la enzima frecuentemente se aprecia en una pro-forma latente, que requiere un mensaje de activación. Este proceso es controlado por la célula, por ejemplo por MMPs adheridas a la superficie celular como la MMP-14 que activa la MMP-2 presente en la superficie celular o por su unión con el uPA, activando el plasminógeno que va a llevar a la producción de plasmina que a su turno activa la pro-MMP.

La acción de las MMPs se observa en salud y enfermedad. En efecto, se les identifica siempre que hay destrucción tisular, enfermedades fibróticas y debilitamiento de la MEC (aneurismas). El área de mayor interés es la relacionada con cáncer y metástasis. Se ha investigado la acción de los TIMPs en la enfermedad neoplásica maligna y en el control de la angiogénesis en

carcinomas de páncreas, carcinomas de cabeza y cuello, gliomas, tumores cerebrales, cáncer gástrico y melanomas. Otro tema de interés en la acción de las MMPs hace relación al desarrollo del ateroma en la aterosclerosis.

Parry y Strauss III (44), del departamento de Ginecología y Obstetricia de la Universidad de Pensilvania, concluyen que la ruptura prematura de las membranas fetales puede ser la consecuencia de la pérdida del balance entre las MMPs y los TIMPs, que conduce a una degradación inapropiada de la MEC de las membranas. En efecto, se ha apreciado un aumento en la actividad proteolítica de las membranas fetales que se rompen prematuramente con predominio de la MMP-9. También se ha encontrado un aumento en la actividad gelatinolítica en las dos formas (latente y activa) de la MMP-9 con una depresión importante del TIMP-1 en el líquido amniótico de mujeres con ruptura prematura de las membranas fetales. Igualmente se ha identificado un aumento dramático en la actividad colagenolítica en la MEC del cérvix uterino en el proceso de dilatación del mismo durante el parto normal. Es interesante anotar que en la enfermedad periodontal también se aprecia un aumento considerable en la actividad de las MMPs. Estos hallazgos investigativos plantean la posibilidad de que estos pacientes puedan tener una predisposición genética, a hacer degradación temprana de la MEC por un aumento anormal en la actividad de las MMPs que puede manifestarse en enfermedad periodontal, dilatación cervical prematura o ruptura prematura de las membranas fetales.

El “borramiento” y la dilatación del cuello uterino exigen la desintegración de la MEC y por tanto la destrucción de su estructura colágena y de su armazón de tejido elástico. El neutrófilo aparece en escena y descarga la cantidad necesaria de MMPs para lograr la desintegración de la MEC. Se aprecia la síntesis de colagenasa y elastasa. La elastasa es la única enzima capaz de desintegrar las fibras elásticas. Esta es una función adicional del neutrófilo, poco conocida.

El cuello uterino es una estructura vital para el embarazo exitoso. Debe permanecer firmemente cerrado para albergar el *conceptus* en desarrollo dentro de la cavidad uterina hasta el momento en que el feto se encuentre en condiciones de abandonarla. Durante el trabajo de parto el cuello uterino se dilata para permitir el

paso del feto con el mínimo estrés y trauma posibles. El proceso de la dilatación cervical está precedido por el fenómeno de “borramiento” del cuello. El “borramiento” y la dilatación se logran por la destrucción del tejido conectivo fibroso denso que lo constituye. En este momento se presentan cambios importantes en la consistencia de la MEC del cuello uterino con alteración de sus glicosaminoglicanos. Hoy se piensa que la maduración del cuello uterino está asociada con la infiltración de una población importante de neutrófilos (Calder) (8), que realizan la colagenolisis y la elastolisis de la estructura conectiva del cuello uterino.

En el ateroma se ha identificado la MMP-3 relacionada con las células musculares lisas y los macrófagos de la placa. En igual forma se ha evidenciado la presencia de la MMP-1 y de la MMP-9 relacionadas con las mismas células integrantes de la placa del ateroma. Por tanto, se ha responsabilizado a estas enzimas del proceso de debilitamiento y ruptura del hombro de la placa, lo cual conduce al fenómeno de trombosis aguda (Nagase en Parks y Mecham) (43). Es interesante anotar que la colagenasa 1, la estromalisina 1 y la gelatinasa B se encuentran relacionadas con macrófagos cargados de lípidos presentes en el techo y en el hombro de la placa aterosclerótica. También es importante anotar que la matrilisina se encuentra presente en otras patologías: en la sinovial de la artritis reumatoidea y en el citotrofoblasto y la placenta de pacientes con pre-eclampsia. La matrilisina también se ha encontrado expresada en el límite entre el núcleo lipídico de la placa ateromatosa y su techo fibroso, lo cual conduce a la inestabilidad de la placa. La matrilisina se encuentra presente en aterosclerosis, fibrosis quística y colitis ulcerativa, demostrando la importancia de esta MMP en el control del crecimiento, la migración celular, la proliferación celular y la destrucción tisular lo que hace pensar que su designación de “enzima degradadora de la MEC” es una descripción muy limitada para esta MMP tan importante. (Wilson y Matrician en Parks y Mecham) (43).

La elastasa del macrófago (MMP-12) de manera característica degrada el tejido elástico insoluble. No solamente disuelve la elastina sino que desintegra otros sustratos demostrando que el macrófago puede expresar otras proteinasas como la cisteína-proteinasa (catepsinas S y L) y las MMPs 7 y 3 (Shapiro y Senior en Parks y Mecham) (43).

Algunos estudios de investigación han demostrado que la gelatinasa A liberada por la plaqueta por acción del colágeno y la trombina, está comprometida en la agregación plaquetaria. La liberación de la gelatinasa A es controlada por la acción del óxido nítrico y la prostaciclina reforzada por el TIMP-2 (Yu et al en Parks y Mecham) (43).

La gelatinasa B se encuentra presente en el microambiente donde hay diferenciación de monocitos a macrófagos. Esta enzima es capaz de desintegrar la MEC y las membranas basales. Igualmente la gelatinasa B se encuentra presente en el área del miocardio infartado y en el territorio del aneurisma de la aorta. En efecto, la pared de la aorta con aneurisma exhibe presencia de macrófagos y linfocitos productores de gelatinasa B, responsables del remodelado de la pared arterial con aneurisma. La gelatinasa B también se encuentra presente en la arteritis de células gigantes y en general se le identifica directamente relacionada con las células musculares lisas y fibroblastos, desintegrando el tejido elástico de la media del vaso inflamado. La gelatinasa B también está presente en el esputo de pacientes con fibrosis quística y en el lavado bronco-alveolar de pacientes con bronquiectasis. La presencia de la gelatinasa B se manifiesta igualmente en el crecimiento tumoral, durante el proceso de destrucción de la MEC. Además, se ha responsabilizado a la gelatinasa B en la patogénesis de la enfermedad renal poliquística, de la nefropatía membranosa y de la enfermedad de Alzheimer (Vu y Welb en Parks y Mecham) (43).