

Rana Catesbeiana, Pólvora e Modulação Supramolecular Cicatrização Intestinal e Prognóstico no Câncer de Cólon: Uma Mesma Origem Biológica para o Insucesso?

Rana catesbeiana, Gunpowder and Supramolecular Modulation Intestinal Healing and Prognosis in Colon Cancer: The Same Biological Origin of the Failure?

EDNA DELABIO-FERRAZ¹; JOÃO PUPO DE AGUIAR NETO²; CHRISTINA MAEDA TAKIYA³; DOMINGOS PENNA LACOMBE⁴

¹Aluna do Curso de Pós-graduação de Cirurgia, nível doutorado, UFRJ; ²Professor Doutor, Chefe do Serviço de Coloproctologia, Hospital Universitário, UFRJ; ³Professora Doutora, Patologista, Programa de Bioengenharia, Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ; ⁴PHD, Professor Convidado do Serviço de Coloproctologia, HUCFF/ UFRJ.

DELABIO-FERRAZ E; AGUIAR NETO JP; TAKIYA CM; LACOMBE DP. Rana Catesbeiana, Pólvora e Modulação Supramolecular Cicatrização Intestinal e Prognóstico no Câncer de Cólon: Uma Mesma Origem Biológica para o Insucesso? *Rev bras Coloproct*, 2010;30(2): 141-151.

RESUMO: A cicatrização e remodelação do cólon resultam das modificações do colágeno na matriz extracelular. Algumas condições desequilibram sua renovação, enfraquecendo a resistência mecânica a cicatriz, como resultado da atividade elevada das metaloproteinases locais, e levando a um alto risco de deiscência. As metaloproteinases da matriz extracelular (*matrix metalloproteinases*, MMPs) constituem uma família de endopeptidases zinco-dependentes - metzincinas. São reconhecidos atualmente, em humanos, cerca de 24 genes responsáveis por cada uma delas. A colagenase (MMP-1) foi identificada por Gross e Lapière (1962) na cauda do girino da rã-touro americana. No câncer as MMPs tem ocupado um lugar especial. Evidências de que a célula neoplásica é capaz de interferir na modulação desta enzima - um co-fator associado à invasividade local e disseminação metastática. As MMP-2 e -7 são observadas com frequência no câncer de cólon, a MMP-12 parece exercer um efeito protetor (melhor prognóstico) e, ao contrário, a MMP-3 o torna pior. A associação entre alta atividade de MMPs, o pior prognóstico do câncer e o maior risco de deiscência de anastomose intestinal já vem sendo considerada, sugerindo uma trilogia consistente. A terapia farmacológica (inibidores MMPs) tem sido investigada, também para o controle do câncer. O artigo discute as informações mais relevantes e atualizadas sobre o assunto.

Descritores: Cirurgia colorretal, metaloproteinases da matriz, câncer de cólon, cicatrização de feridas, deiscência.

INTRODUÇÃO

O advento da pólvora e dos arcabuzes modificou consideravelmente a qualidade dos ferimentos dos campos de batalha, há cerca de 500 anos, quando a sobrevivência era reservada apenas aos portadores de ferimentos nos membros, tratados quase que invari-

velmente com amputação. Nos hospitais de campanha, o tratamento dos cotos de amputação consistia na aplicação de óleos ferventes, uma corriqueira prática baseada na crença de que assim se removia das feridas a suposta toxina da pólvora, capaz de fazer sucumbir o soldado ferido. Um gentil cirurgião - como era chamado Ambroise Paré (1510-1590), modificou este concei-

Trabalho realizado no Serviço de Proctologia / HUCFF, Universidade Federal do Rio de Janeiro - RJ - Brasil.

Recebido em 06/05/2010

Aceito para publicação em 17/06/2010

Fontes de auxílio à pesquisa: FAPERJ

to alterando, acidentalmente, a prática dos curativos com óleo fervente. Na falta do tradicional óleo e com receio de receber críticas por não ter atuado em favor das vítimas, introduziu a prática de curativos que consistiam de uma mistura com óleo de rosas, turpentina e ovos. Para sua surpresa, e após uma noite de pesadelos, os pacientes amanheceram em melhor estado que os outros tratados a óleo fervente.* Assim, Paré criou um novo conceito. Esta experiência trouxe, à luz do conhecimento de sua época, uma concepção diferente ao valorizar as leis naturais da cicatrização – a nova prática reduzia o dano às respostas naturais da cicatrização, ao tratar o soldado com mais gentileza. Não seria demais considerar esta estratégia como precursora do recente e atual conceito de redução do dano. Foi assim que Paré passou a disseminar a idéia de que era melhor abandonar a “miserável maneira de queimar e tostar as feridas”. (1, 2, 3)

Ser gentil com as leis naturais e reduzir o dano representam, mais do que um conceito inovador, uma releitura de antigos princípios, quando a preocupação com a cicatrização já se fazia presente.

Hoje, a remodelação tecidual é compreendida como um processo dinâmico e contínuo, fundamental na manutenção de vários processos fisiológicos vitais, desde o nascimento até a morte. Na matriz extracelular (MEC) operam importantes substratos em favor destes eventos. Macromoléculas secretadas neste espaço formam uma complexa rede protéica e algumas delas são especializadas em degradar as proteínas extracelulares, concorrendo para as modificações teciduais. O processo de remodelação e regeneração dos tecidos sofre a modulação de mecanismos enzimáticos, que mantém harmônica e equilibrada a degradação da MEC nos diversos eventos fisiológicos. A perda desta modulação é deletéria para a estabilidade estrutural dos tecidos, assim como de suas funções, levando ao surgimento dos processos de doença. Exemplos deste mecanismo podem ser encontrados nas doenças degenerativas vasculares (aneurisma), pulmo-

nares (bronquiectasia), osteoarticulares (artrite reumatóide), gastrintestinais (doença inflamatória, diverticulite) e até nas neurológicas (doenças de Parkinson e Alzheimer), explicando também a invasividade local do câncer e sua disseminação à distância.⁽⁴⁾

Outro evento, que caracteriza bem a expressão inadequada das metaloproteinases, interessa sobremaneira os cirurgiões dedicados em pesquisar e desvendar a biologia da cicatrização intestinal. Quase um século foi necessário para o melhor entendimento desta reparação, desde que Halsted⁽⁵⁾ (1887) demonstrou a importância da submucosa na resistência mecânica das anastomoses. Atualmente, técnicas laboratoriais avançadas permitem além da identificação e categorização enzimática, molecular e nanométrica, atividade enzimática, demonstrando um universo majestoso das estruturas físicoquímicas que compõem a dinâmica da matriz tecidual.

O insucesso da cicatrização intestinal pode ser compreendido como uma consequência da modulação desarmônica, desequilibrada e descontrolada da matriz extracelular, em que a expressão das enzimas encarregadas em remover o colágeno maduro extrapola a necessidade e a capacidade de síntese da nova molécula, terminando por enfraquecer o arcabouço estrutural e a resistência mecânica da cicatriz em formação. É sobre este novo conceito, passando por Paré, Halsted e Lapière, que o presente trabalho pretende revisitar.

Rana catesbeiana, Gross & Lapière e MMPs

A remodelação protéica** da matriz extracelular (MEC) é mediada por enzimas conhecidas como metaloproteinases de matriz (MMPs, do inglês *Matrix Metalloproteinases*) cabendo a Gross e Lapière⁽⁶⁾, a primeira descrição sobre esta atividade enzimática em animal (1962), identificada como responsável pela involução da cauda do girino da espécie rana catesbeiana (*Lithobates catesbeianus* - Shaw,

* “At last I wanted oil, and was constrained instead thereof, to apply a digestive of yolks of eggs, oil of Roses, and Turpentine. In the night I could not sleep in quiet, fearing some default in not cauterizing, that I should find those to whom I had not used the burning oil dead empoisoned; which made me rise very early to visit them, where beyond my expectation I found those to whom I had applied my digestive medicine, to feel little pain, and their wounds without inflammation or tumor, having rested reasonable well in the night: the others to whom was used the said boiling oil, I found them feverish, with great pain and swelling about the edges of their wounds.

And then I resolved with my self never so cruelly to burn poor men wounded with gunshot... See then how I have learned to dress wounds made with gunshot, not by books.” *Publicado em* “La méthode de traicter les playes faictes par hacquebutes et aultres bastons à feu et de celles qui sont faictes par flèches, dards et semblables”. *Ambroise Paré (1545)*

** *Remodelação ou turnover correspondem às mudanças sofridas pela MEC, durante a renovação de seu conteúdo protéico, também representado pela razão degradação-síntese.*

1802. Em seguida, esta enzima também foi identificada na pele humana⁽¹⁶⁾ passando a ser denominada colagenase 1 (metaloproteinase-1 ou MMP-1) que corresponde à colagenase intersticial – a única capaz de clivar a tripla hélice do colágeno.

As MMPs podem ser classificadas, basicamente, em: a) colagenases verdadeiras, que digerem a tripla hélice do colágeno, b) gelatinases, que atingem o colágeno e a gelatina desnaturada e c) estromelinas, que degradam as proteoglicanas. As MMPs representam a maior classe de enzimas responsáveis pelo metabolismo da MEC⁽⁷⁾ e, desde a primeira colagenase isolada (1962) até os dias atuais, já foram identificados 23 genes parálogos de MMPs, em humanos: MMP 1 a 3, MMP 7 a 17, MMP 19 a 21 e MMP 23 a 28, assim nomeadas por razões históricas.⁽⁸⁾

Estas enzimas são coletivamente denominadas matrixinas e constituem um grande clã ou família de metaloendopeptidases, as endopeptidases zincodpendentes, por isto também chamadas metzincinas. Exercem seu papel mais relevante na remodelação tecidual fisiológica a MEC. Assim, atuam nos processos biológicos primários, tais como morfogênese, ovulação, involução uterina pós-parto, remodelação óssea e cicatrização de feridas. Sob condições fisiológicas sua expressão é regulada por meio de ativação de zimogênios precursores (pró-MMPs) na MEC, sendo sua expressão modulada ou bloqueada por inibidores endógenos. As MMPs apresentam um

sítio catalítico ligado ao íon zinco (Zn^{++}) e a cisteína, além de um domínio ligado à hemopexina e, ao menos, dois átomos de cálcio⁴⁴ que devem atuar na estabilização da estrutura (Figura 1). Atualmente, a superfamília das Metzincinas é subdividida em quatro grupos: a) seralisinas, b) astacinas, c) MMPs, d) Adams/adamalisinas. As adamalisinas ou ADAMs (um acrônimo de *A Disintegrin And Metalloprotease*) compõem um grupo especializado de metzincinas e correspondem a enzimas-transmembranares, recentemente descobertas. Tem sido observado que, além das funções proteolíticas, as ADAMs representam um papel importante na adesão, migração e sinalização celular. Nos humanos, apenas os genes ADAM-13 e -21 observam a função proteolítica enquanto a maioria delas atua em outras funções específicas. Um exemplo das que não possuem função proteolítica é a ADAM-17, conhecida por TACE (*tumour necrosis factor-alpha convertase*) responsável por ativar a molécula pró-TNF. Estas enzimas especializadas vêm sendo apontadas como fundamentais para processos relacionados à espermatogênese, tais como a capacidade de maturar, migrar e aderir o espermatozóide no epitélio. Também tem sido observado seu envolvimento em doenças, tais como asma, Alzheimer e câncer.⁽⁹⁾

Recentes evidências laboratoriais demonstram também que as MMPs estão associadas a processos sofisticados, tais como a ativação/inativação de proteínas cujos substratos incluem outras proteases,

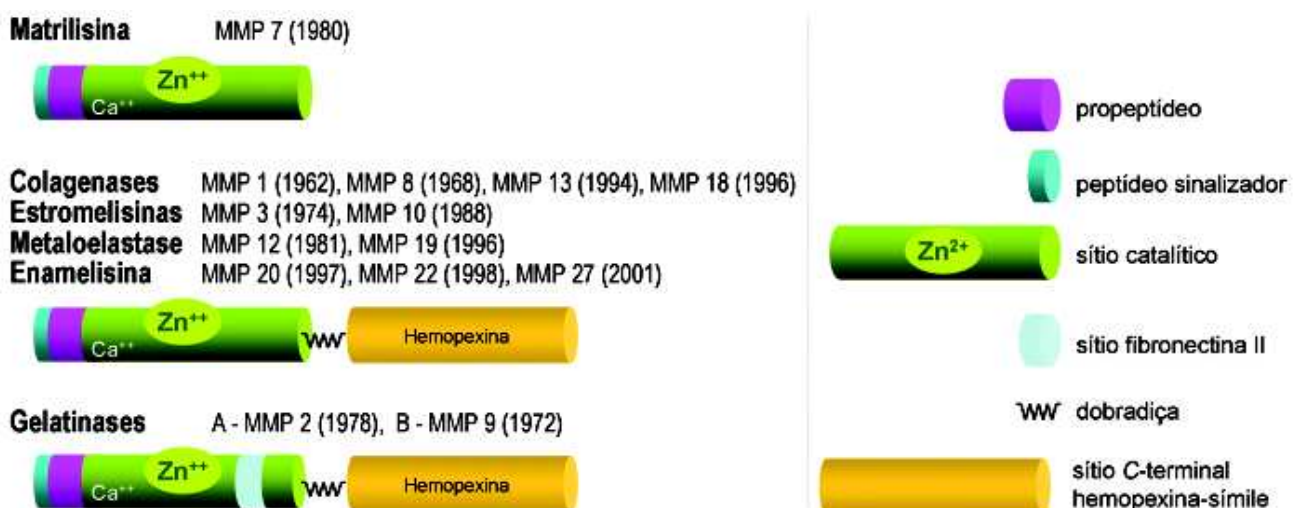


Figura 1 - Estrutura funcional básica de algumas metaloproteinases da matriz extracelular, mostrando que o sítio catalítico é que carrega o íon zinco. A matrilisina (MMP-7) é a de estrutura mais simples, desprovida do sítio C-terminal hemopexina-símile (modificado de Nagase e Visse⁽²⁸⁾).

inibidores de proteases, fatores de coagulação, peptídeos antimicrobianos, moléculas de adesão, fatores de crescimento, hormônios, citocinas, assim como receptores e proteínas de ligação. Portanto, desempenham papel importante na proliferação, diferenciação, adesão e migração celular, angiogênese, apoptose, inflamação e defesa imunológica. O envolvimento tão amplo destas enzimas nos vários processos biológicos supõe a necessidade de mecanismos de controle igualmente refinados com vistas a modular sua expressão – os inibidores endógenos de MMPs. O desequilíbrio destes mecanismos pode gerar doença. Artrite, fibrose, periodontite, doença cardiovascular e, inclusive, degeneração neurológica, tais como as doenças de Parkinson e de Alzheimer, já são bem explicadas por esta expressão enzimática desequilibrada. A neoplasia é outra condição associada à expressão irregular das MMPs, podendo contribuir e determinar sua invasividade local e à distância.^(4,8) Em 2004, Lapière verificou as publicações disponíveis sobre a família MMP e contabilizou mais de 25.000 em um período de 40 anos⁽¹⁰⁾. Dentre os temas mais pesquisados o câncer já ocupava o primeiro lugar (Tabela 1).

Inibidores de MMPs

O controle, a manutenção e o equilíbrio funcional da expressão destas enzimas proteolíticas já era tema especulado nas primeiras publicações de Gross e Lapière. Discute-se desde então a participação de um possível agente inibidor, capaz de modular a atividade das referidas enzimas. Estes inibidores naturais, agora reconhecidos como TIMPs (*Tissue Inhibitors of Proteases*) assumem um papel primordial na expressão das MMPs (Figura 2). Seu exato mecanismo de ação ainda não foi esclarecido, mas o assunto já apon-

Tabela 1 - Prevalência de temas investigados em um período de 40 anos, a partir da primeira colagenase descoberta, utilizando o Pubmed como mecanismo de busca. Segundo Lapière CM (2005).

Tema	N. Publicações
Câncer	4.235
Artrite	1.292
Doenças de pele	680
Fibrose	649
Cicatrização de feridas	549

ta para possíveis aplicações farmacológicas. Este grande interesse se iniciou nos anos 70-80, a partir de pesquisas sobre a atividade da colagenase na periodontite⁽¹¹⁾ com Golub e cols.^(12, 13) demonstrando ser possível inibir as MMPs por meio exógeno - um antimicrobiano de uso comum na clínica odontológica promovia a inibição das MMPs, mesmo em doses subantimicrobianas. Assim foi descoberto o Periostat® (Collagenex, EUA) o primeiro produto para o controle farmacológico da colagenase, indicado para a periodontite, resultado da expressão elevada das MMPs.

O interesse sobre o tema tem sofrido evolução surpreendente desde a primeira pesquisa publicada por Birkedal-Hansen e cols.⁽¹¹⁾, e hoje já contabiliza mais de 15.600 publicações associadas aos descritores “*metalloproteinases and inhibitors*” no Pubmed, revelando a importância atual dos inibidores farmacológicos de MMPs. Neste campo, também a inflamação, a cicatrização e câncer intestinal ganham assento (Tabela 2).

MMPs e cicatrização colônica – bases bioquímicas e moleculares

Na era da anastomose mecânica e da cirurgia minimamente invasiva, a natureza particular e ímpar da anatomia colorretal ainda confere à cicatrização colônica um alto risco reconhecido por todos, cuja incidência de insucesso gira em torno de 3 a 30%^(14,15,16,17,18), uma mortalidade igualmente preocupante. Os primeiros dias da cicatrização de uma anastomose são, invariavelmente, acompanhados da solitária inquietude por parte do cirurgião⁽¹⁹⁾, apesar da certeza de que todos os princípios técnicos foram atendidos ou suficientes para garantir uma boa resposta biológica que influencie positivamente a cicatrização. Agravando ainda mais estas particularidades do cólon, o diagnóstico da deiscência pode ser tardio, a despeito dos métodos de diagnóstico por imagem mais sofisticados.⁽¹⁶⁾ Entretanto, o período crítico da cicatrização de anastomoses intestinais é lembrado de forma medular entre os cirurgiões, pois é sabido e reconhecido que entre o 3º ao 5º dia o cólon cicatriza com mais dificuldade que o intestino delgado. Investigações mostram que a produção de colágeno novo é mais lenta no cólon.⁽²⁰⁾ Uma diversidade de fatores de risco, locais e sistêmicos, pioram ainda mais esta condição e evolução natural, abrindo caminho à falência mecânica da cicatrização intestinal. A desnutrição, a tensão sobre a anastomose, a peritonite, a obstrução, a isquemia, a

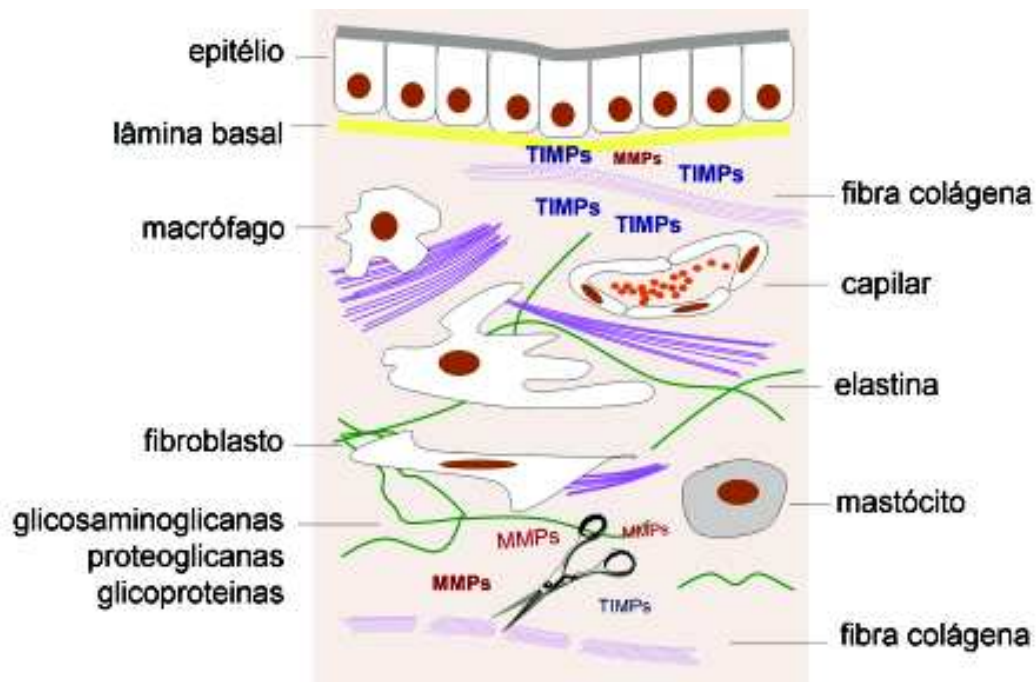


Figura 2: O processo de remodelação e regeneração dos tecidos é controlado por mecanismos enzimáticos presentes no tecido conectivo, que trabalham em favor da degradação harmônica da matriz extracelular nos diversos eventos fisiológicos. A perda deste equilíbrio ou modulação é deletéria para a estabilidade estrutural e mecânica dos tecidos, desregulando suas funções e levando ao surgimento dos processos de doença. Os inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMPs) são imprescindíveis para a manutenção deste equilíbrio. Na parte inferior da figura é representada a clivagem do colágeno como resultado da maior expressão das MMPs. Modificado Bruce A et al ⁽⁶¹⁾.

anemia, a corticoterapia e a radioterapia são os mais importantes. A microflora bacteriana e as forças de cisalhamento resultantes da peristalse e trânsito fecal, são elementos coadjuvantes que também podem agir contra os mecanismos de cicatrização.⁽²¹⁾

Para um melhor entendimento sobre estes fenômenos biológicos, cabe lembrar que a estrutura histológica, assim como as características bioquímicas e moleculares, confere ao comportamento cicatricial

do cólon um perfil diferenciado. O rompimento da barreira mucosa é selado em torno de três dias, quando devidamente aproximado - um resultado imediato da migração e hiperplasia das células epiteliais.⁽²²⁾ Entretanto, é a submucosa que garante a maior força tênsil, assegurando resistência mecânica durante todo o processo de cicatrização, fato amplamente reconhecido desde que foi provado por Halsted, em 1887. Na submucosa se encontram múltiplos elementos, tais como

Tabela 2 - Importância das investigações sobre as MMPs, seus inibidores, câncer, cicatrização e cólon, representada pelo volume de publicações encontradas em breve pesquisa (ferramenta de busca: Medline/ Pubmed).

Descritores utilizados	Número de publicações (Dezembro, 2009)
metalloproteinase	62.180
metalloproteinase <i>and</i> inhibitors	15.600
metalloproteinase <i>and</i> cancer	13.527
metalloproteinase <i>and</i> healing	1.715
metalloproteinase <i>and</i> colon	800

o plexo neural e seus gânglios, vasos linfáticos e sanguíneos, além de fibras colágenas e elásticas. Dentre as fibras supramoleculares do colágeno, no cólon predominam 3 tipos: tipo I (68%), tipo II (20%) e tipo V (12%), em contraste com a pele em que predominam apenas dois tipos de colágeno. Ao reparar a lesão da parede intestinal, a síntese do novo colágeno é oriunda tanto da muscular própria quanto da muscular da mucosa, que contém fibroblastos e células de músculo liso ou mesmo miofibroblastos (Figura 3).^(21,22)

A sustentação mecânica, garantida temporariamente pela sutura, logo precisa ser reforçada pela síntese de novo tecido. Durante o processo de reparação da anastomose colônica, o equilíbrio dinâmico e estável do colágeno é colocado em prova por volta do terceiro ao quinto dia, quando a razão da degradação/síntese é invertida propiciando condições ao vazamento. Uma alta atividade colagenolítica presente no intestino grosso é apontada desde os anos 60 como responsável pelas elevadas taxas de deiscência, capaz de reduzir em cerca de 40% o colágeno da anastomose, por volta do terceiro dia de pós-operatório.^(23,24,25) Esta expressão enzimática aumentada pode ultrapassar a capacidade de modulação de seus inibidores naturais na reorganização ou “turnover” protéico da MEC.^(26,27,28)

A importância das MMPs e seus inibidores na cicatrização intestinal foi enfatizada há quase 4 décadas, quando foi sugerida a interação de fatores circulatórios ou plasmáticos responsáveis por inibir as colagenases (α -macroglobulinas) capazes de influenciar o processo de reparação intestinal^(14,29,30). Logo foi sugerida uma abordagem com a aprotinina, um inibidor de protease^(29,31), mas sua aplicação clínica não alcançou o sucesso desejado para este fim. A correlação da rápida redução do colágeno com uma expressão elevada destas enzimas, na fase inicial da cirurgia criou um novo conceito^(32,33), passando a explicar a razão do maior risco destas anastomoses em condições adversas, como a obstrução intestinal e a peritonite.^(33,34,35,36,37) Portanto, as observações iniciais sobre inibição exógena das colagenases têm permitido explicar as bases bioquímicas da colagenólise no momento crítico da anastomose.

A anastomose intestinal está sob maior risco em condições clínicas adversas como a obstrução intestinal, quando a expressão das MMPs perturba a evolução estável da cicatrização. Experimentos sugeriram uma aparente elevação da síntese de colágeno nestas condições, mas era difícil explicar a razão do maior risco de deiscência⁽²²⁾ até que, finalmente, seria

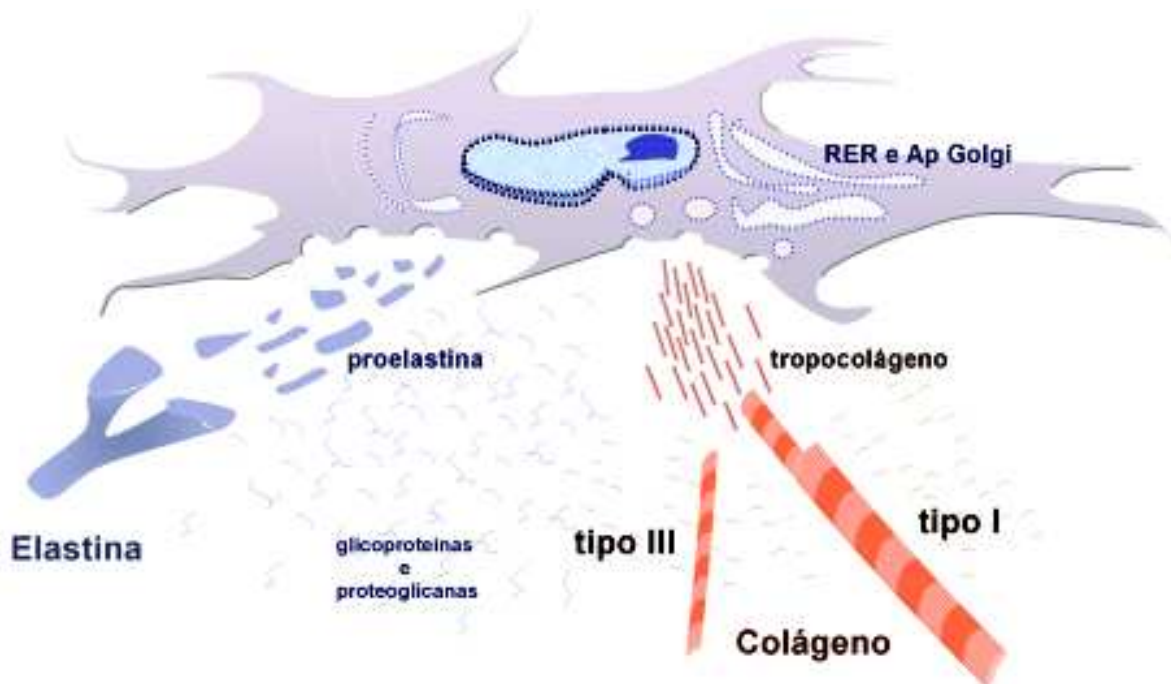


Figura 3: Esquema gráfico representando o fibroblasto, com sua forma estelar, grande responsável pela produção de colágeno. Modificado de Liebich HG, 2004⁽⁶²⁾.

demonstrada uma elevada atividade de MMPs no cólon de coelhos submetidos à estenose.^(33,38) A radioterapia também mostrou estar relacionada a uma produção maior de MMPs, levando ao risco adicional para as anastomoses.^(39,40) Na tentativa de reduzir este efeito, foram testadas algumas medidas. A administração oral de fibra solúvel provocou redução da atividade da MMP-2, que melhora os parâmetros mecânicos e histológicos de anastomoses de cólon em ratos submetidos à radioterapia, e resulta em efeito similar à administração retal de ácidos graxos de cadeia curta⁽⁴¹⁾. Em outro estudo, calculou-se a dose de risco para a anastomose em animais, sendo observado que uma dose pré-operatória de 40Gy aumentava a expressão MMP de forma a comprometer a resistência mecânica da anastomose, ao contrário da dose 25Gy que não mostrou o mesmo efeito.⁽⁴²⁾

São muitas as estratégias no sentido de assegurar as condições à boa cicatrização do cólon. Novos materiais de sutura, associação de adesivos biológicos, técnicas para reduzir os efeitos da menor perfusão arterial, terapias farmacológicas e, até, a aplicação de agentes exógenos que promovem a angiogênese, vêm interessando um grande número de pesquisadores.⁽⁴³⁾

MMPs, Câncer e Deiscência – uma Trilogia?

Até o final dos anos 90 acreditava-se que a deiscência anastomótica explicava a recorrência local e o pior prognóstico, sendo considerado um fator independente e que piorava o prognóstico dos pacientes portadores de câncer colorretal, fato explicado pelo derrame (*wash-out*) de células esfoliadas na cavidade peritoneal.⁽⁴⁴⁾

Atualmente, as pesquisas sobre o papel das metaloproteinases no câncer já superaram em número de publicações (Tabela 2), o que permite explicar de maneira diferenciada esta correlação. Alguns estudos clínicos controlados com inibidores de MMPs já se encontram em fase III, revelando novas possibilidades terapêuticas com base neste conhecimento sobre remodelação da matriz extracelular, angiogênese e adesividade celular.^(11,45,46,47) Desde que foi identificada a possibilidade de reduzir a agressividade do câncer por meio da ação de inibidores exógenos de MMPs⁽⁴⁸⁾ foi iniciada uma corrida em busca de um possível tratamento farmacológico. A compreensão atual sobre os mecanismos envolvidos no comportamento do câncer não mais se desvincula deste cenário, em que as

endopeptidases zincodependentes e seus inibidores endógenos e exógenos são grandes personagens - palco pluridimensional supramolecular.

Os estudos mais recentes sobre o câncer colorretal tentam identificar alguns elementos-chave sobre o diagnóstico e o controle da doença. A correlação entre a expressão de MMPs especializadas e o comportamento da doença, é um dos alvos de investigação (Figuras 4 e 5). É sabido que a MMP-7, por exemplo, é produzida com abundância no câncer colorretal e a mutação do gene APC resulta na acumulação de um complexo protéico, que estimula sua expressão⁽⁴⁹⁾. Enquanto isto, a expressão elevada da MMP-3 tem sido correlacionada a um pior prognóstico no câncer colorretal e que a MMP-9 tem sido observada com frequência na transição adenoma-carcinoma. Ao contrário, a MMP-12 tem sido associada a uma melhor sobrevida, possivelmente em decorrência a um efeito inibitório da angiogênese. Discute-se ainda se estas enzimas são produto da secreção de células estromais vizinhas ou das células cancerígenas.⁽⁵⁰⁾

Um ponto ainda não bem esclarecido é a associação entre deiscência e os piores prognósticos do câncer. A correlação da deiscência com a sobrevida em cinco anos ainda tem sido investigada^(51,52,53). Um dos trabalhos mostra uma redução da sobrevida de 76% para 57% quando associado ao vazamento da anastomose⁽⁵³⁾ e outro estudo bem mais recente observa uma redução na sobrevida de 61% para 25%, associada à ocorrência de insucesso na cicatrização⁽⁵⁴⁾. Em pacientes submetidos à ressecção curativa, nos quais o inventário cirúrgico não mostrou qualquer tipo de metástase focal, a sobrevida em 5 anos caiu de 67 para 42% no grupo em que foi observada deiscência. Para estes autores os resultados sugerem algum tipo de influência sistêmica que estimule do crescimento de micrometástases, faltando esclarecer se são os mesmos mecanismos que influenciam negativamente a anastomose e a sobrevida destes pacientes. Um dos estudos tentou esclarecer esta dúvida avaliando 1.722 casos operados para câncer⁽⁵⁵⁾. Neste, os autores confirmaram que a deiscência representou um fator independente ao influenciar a sobrevida de cinco anos havendo ainda, nos casos com deiscência, uma redução marcante de prognóstico (64% para 44%). Estes pesquisadores chamam atenção para outro dado interessante. Ao analisar apenas os casos com deiscência mínima e localizada, foi observado que a queda do padrão prognóstico permaneceu o mesmo, semelhante ao

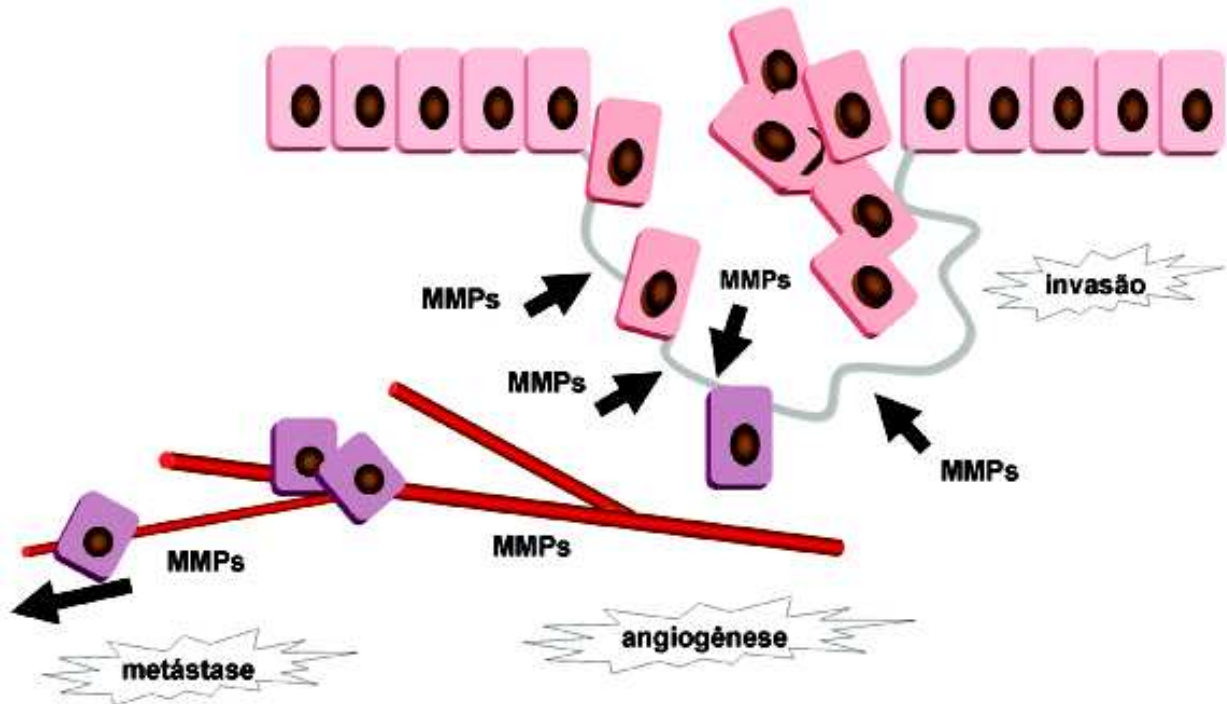


Figura 4: Esquema gráfico que representa a expressão das metaloproteinases (MMPs) no câncer, sendo responsável por gerar invasividade local e a distância ao romper a MEC e promover a angiogênese. Modificado de Rudek, Venitz & Figg, 2002 ⁽⁶³⁾.

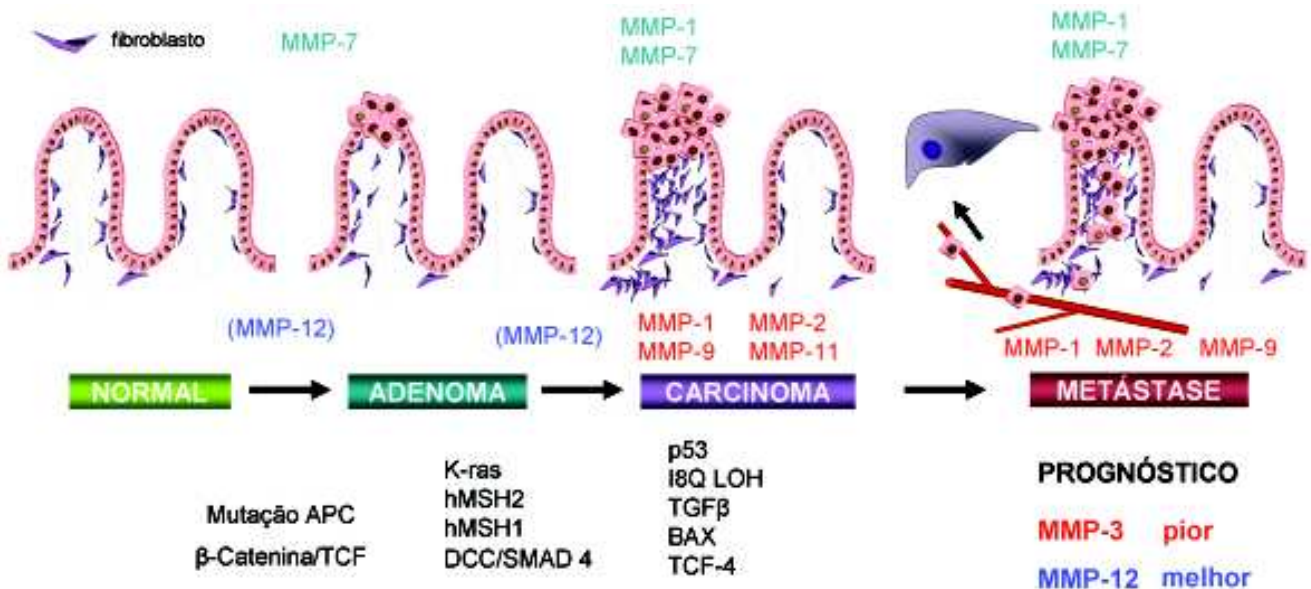


Figura 5: Representação da sequência adenoma-carcinoma, em que a estabilidade das fibras da MEC é violada por meio da ação de MMPs produzidas pelos fibroblastos epiteliais (em verde) ou endoteliais (em vermelho) ou diretamente estimulados pela célula neoplásica. No câncer de cólon a MMP-7 é a mais abundante, associada a um complexo protéico produzido pela mutação APC. A MMP-12 parece atuar de maneira positiva, melhorando o prognóstico enquanto a MMP-3 o piora (modificado de Wagenaar-Miller RA & Matrisian LM, 2004).⁶⁶

outro grupo com deiscência maior, o que invalida a concepção anterior de que o fator responsável pela piora do prognóstico era o derrame intraperitoneal ou intraluminal de células neoplásicas, e sugere então um fator sistêmico. Outro estudo clínico avaliou a fenotipagem de pacientes em vários estágios de doença, identificando outro fato interessante: a perda da expressão TIMP-2 foi o fator independente que mais afetou o prognóstico da doença⁽⁵⁶⁾. Sob uma óptica supramolecular, em um cenário de conceito colagenolítico mais atual, este dado bem pode sugerir a presença de um fator genético que concorra para favorecer as duas situações. A mesma origem genômica, e a mesma expressão enzimática, geram influência negativa similar tanto na cicatrização quanto no prognóstico do câncer de cólon. Outros tentaram encontrar uma correlação mais específica dos níveis de MMPs e TIMPs (inibidores endógenos) com a evolução/sobrevida, na hipótese de se encontrar um marcador prognóstico. Os resultados sugeriram uma base genética sendo observado um melhor prognóstico nos casos com altos níveis de TIMP-3, única variável independente significativa⁽⁵⁷⁾. Identificação de um marcador enzimático para o diagnóstico precoce também foi ten-

tada. Assim, foi sugerido que a TIMP-1 poderia ser empregada como um marcador para o diagnóstico precoce do câncer, em virtude de sua elevação em fases iniciais da doença⁽⁵⁸⁾. Mais recentemente, foi possível correlacionar a elevação da MMP-8 e -9 com um maior risco de deiscência⁽⁵⁹⁾.

Os dados atuais apontam para uma expressiva importância dada às MMPs pela comunidade científica internacional, em vários aspectos do comportamento celular e tecidual – desde a cicatrização intestinal até o câncer. É preciso interpretá-las e avançar nesta direção.

Em 2002, Brinckerhoff & Matrisian⁽⁶⁰⁾ publicaram artigo reverenciando Gross & Lapière, para o que deram o título: “*Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince*”. Generoso, cordial e orgulhoso, Lapière respondeu em 2005: “...*Might be true, but the future of a Prince is to become a King!*”.

Parê aplaudiria de pé!

Agradecimentos

Ao Dr. Rosalvo José Ribeiro, nosso agradecimento pela generosa contribuição na revisão ortográfica e sintática.

ABSTRACT: Colon healing and remodeling depends on the collagen changes in extracellular matrix. Some conditions, disrupt its turnover, causing strength weakening of the scar, as a result of high activity of local matrix metalloproteinases, causing a high risk of dehiscence. The extracellular matrix metalloproteinases are a family of zinc-dependent endopeptidases, or metzincines, and have been currently recognized in humans about 24 genes responsible for each one. The first MMP, collagenase (MMP-1), was described by Gross and Lapière (1962), while studying tadpole resorption of the American bullfrog. Metalloproteinases activity in cancer research, has taken a special place. Currently, evidences points to the cancer cell ability to interfere with enzymatic activity modulation - an co-factor which affects local invasiveness and metastatic dissemination. Both MMPs-2 and -7 have been frequently observed in colon cancer. Moreover, MMP-12 seems to counteract MMP-7 effect therefore considered as a protector and associated with better prognosis, in contrast to MMP-3, which may be responsible for a worse outcome. Association between high activity of MMPs, the prognosis of cancer and increased risk of intestinal anastomotic leakage has been highlighted, suggesting a consistent trilogy. Pharmacological therapy using MMPs inhibitors has been extensively studied, especially targeted for cancer control. The article discusses the most relevant information and updated information on the subject.

Key words: Colorectal surgery, matriz metalloproteinases, wound healing, colon cancer, dehiscence.

REFERÊNCIAS

1. Mackenzie D. The history of sutures. The Scottish Society of the History of Medicine. Med Hist. 1973;17(2):158-68.
2. Rezende, JM. Caminhos da Medicina. Ambroise Paré: O cirurgião que não sabia latim. 2002. Disponível em <http://usuarios.cultura.com.br/jmrezende/ambroise.htm>, acessado em Janeiro de 2010.
3. Tan SY, JD and Yeow ME. Medicine in Stamps. Ambroise Paré (1510-1590): The Gentle Surgeon. Singapore Med J 2003;44(3):112-113.
4. Overall CM, López-Otín C. Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era. Nat Rev Cancer 2002;2(9):657-72.
5. Halsted WS. Circular suture of the intestine: An experimental study. Am J Med Sci 1887;94:436. apud Maccallum WG. In

- Biographical memoir os William Stewart Halsted, 1852-1922. National Academy of Sciences of the United States of America. Biographical Memoirs – Volume XVII – Seventh Memoir. Presented to the Academy at the Autumn Meeting, 1935.
6. Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci U S A*.1962;48:1014-22.
 7. Kerrigan JJ, Mansell JP, Sandy JR. Matrix turnover. *J Orthod* 2000;27(3):227-33.
 8. Tallant C, Marrero A, Gomis-Rüth FX. Review. Matrix metalloproteinases: Fold and function of their catalytic domains. *Biochim Biophys Acta* 2010;1803(1):20-28.
 9. Edwards DR, Handsley MM, Pennington CJ. The ADAM metalloproteinases. *Mol Aspects Med* 2008;29(5):258-89.
 10. Lapière CM. Tadpole collagenase, the single parent of such a large family. *Biochimie* 2005;87(3-4):243-7.
 11. Birkedal-Hansen H, Cobb CM, Taylor RE, Fullmer HM. Serum inhibition of gingival collagenase. *J Oral Pathol* 1974;3(6):284-90.
 12. Golub LM, Lee HM, Lehrer G, Nemiroff A, McNamara TF, Kaplan R. Minocycline reduces gingival collagenolytic activity during diabetes: preliminary observations and a proposed new mechanism of action. *J Periodont Res* 1983;18:516–26.
 13. Golub LM, Lee HM, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998;12(2):12-26.
 14. Buchs NC, Gervaz P, Secic M, Bucher P, Mugnier-Konrad B, Morel P. Incidence, consequences, and risk factors for anastomotic dehiscence after colorectal surgery: a prospective monocentric study. *Int J Colorectal Dis* 2008;23(3):265-70.
 15. Erdas E, Zedda A, Pitzalis A, Scano D, Barbarossa M, Aresu S, Licheri S, Pomata M, Farina G. [Anastomotic leak following colorectal surgery: incidence, risk factors and treatment]. *Chir Ital* 2009;61(4):407-17.
 16. Hyman N, Manchester TL, Cataldo PA et al. Anastomotic Leaks After Intestinal Anastomosis: It's Later Than You Think. *Ann Surg* 2007;245(2):254–258.
 17. Iancu C, Mocan LC, Todea-Iancu D, et al. Host-related predictive factors for anastomotic leakage following large bowel resections for colorectal cancer. *J Gastrointestin Liver Dis*. 2008;17(3):299-303.
 18. Matthiessen P, Hallböök O, Andersson M, Rutegård J, Sjö Dahl R. Risk factors for anastomotic leakage after anterior resection of the rectum. *Colorectal Dis* 2004;6(6):462-9.
 19. Jonsson K, Jiborn JK, Zederfeldt B. Breaking strength of small intestinal anastomoses. *Am J Surg* 1983;145(6):800-3.
 20. Martens MF, Hendriks T. Postoperative changes in collagen synthesis in intestinal anastomoses of the rat: differences between small and large bowel. *Gut* 1991;32(12):1482-7.
 21. Thompson SK, Chang EY, Jobe BA. Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part I. *Microsurgery* 2006;26(3):131-6.
 22. Thornton FJ, Barbul A. Healing in the gastrointestinal tract. *Surg Clin North Am* 1997;77(3):549-73.
 23. Cronin D, Jackson D, Dunphy JE. Changing bursting strength and collagen content in healing colon. *Surg Gynecol Obstet* 1968;126(4):747-753.
 24. Delaney P, Lalor D. Enzyme inhibition in colorectal surgery. *Br J Surg* 1976;63(1):23-4.
 25. Hawley PR, Hunt TK, Dunphy JE. Etiology of Colonic Anastomotic Leaks. *Proc R Soc Med*1970;63(Suppl 1):28-30.
 26. Hogstrom H, Haglund U, Zederfeldt B. Beneficial effect of proteinase inhibitors on early breaking strength of intestinal anastomoses. *Acta Chir Scand* 1985;151(6):529-32.
 27. Sheridan WG, Shandall AA, Alexander WJ, et al. A multicenter trial of the use of the proteolytic enzyme inhibitor aprotinin in colorectal surgery. *Dis Colon Rectum* 1989;32(6):505-8.
 28. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006;69(3):562-73.
 29. Lewin MR, Chowcat NL, Jayaraj AP, Boulos PB. Collagenase inhibition in colonic mucosa by proteinase inhibitors. *Br J Exp Pathol* 1986;67(4):523-6.
 30. Sakamoto S, Goldhaber P, Glimcher MJ. Maintenance of mouse bone collagenase activity in the presence of serum protein by addition of trypsin. *Proc Soc Exp Biol Med* 1972;139(3):1038-41. apud Delaney P, Lalor D. Enzyme inhibition in colorectal surgery. *Br J Surg* 1976;63(1):23-4.
 31. Hilska M, Roberts PJ, Collan YU, et al. Prognostic significance of matrix metalloproteinases-1, -2, -7 and -13 and tissue inhibitors of metalloproteinases-1, -2, -3 and -4 in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2007;121(4):714-23.
 32. Chowcat NL, Savage FJ, Lewin MR, Boulos PB. Direct measurement of collagenase in colonic anastomosis. *Br J Surg* 1990;77(11):1284-7.
 33. Lacombe DLP. *Matriz Metalloproteinases in Experimental Colonic Healing*. Thesis submitted for degree of Doctor of Philosophy to the University of London. 1994.
 34. de Hingh IH, Siemonsma MA, de Man BM, Lomme RM, Hendriks T. The matrix metalloproteinase inhibitor BB-94 improves the strength of intestinal anastomoses in the rat. *Int J Colorectal Dis* 2002;17(5):348-54.
 35. Siemonsma MA, de Hingh IH, de Man BM, Lomme RM, Verhofstad AA, Hendriks T. Doxycycline improves wound strength after intestinal anastomosis in the rat. *Surgery* 2003;133(3):268-76.
 36. Stumpf M, Cao W, Klinge U, Klosterhalfen B, Kasperk R, Schumpelick V. Increased distribution of collagen type III and reduced expression of matrix metalloproteinase 1 in patients with diverticular disease. *Int J Colorectal Dis* 2001; 16: 271-5.
 37. Syk I, Mirastschijski U, Jeppsson BW, Agren MS. Experimental colonic obstruction increases collagen degradation by matrix metalloproteinases in the bowel wall. *Dis Colon Rectum* 2003;46(9):1251-9.

38. Savage FJ, Lacombe DL, Hembry RM, Boulos PB. Effect of colonic obstruction on the distribution of matrix metalloproteinases during anastomotic healing. *Br J Surg* 1998;85(1):72-5.
39. Seifert WF, Wobbes T, Hoogenhout J, de Man BM, Hendriks T. Intra-operative irradiation prolongs the presence of matrix metalloproteinase activity in large bowel anastomoses of the rat. *Radiat Res* 1997;147(3):354-61.
40. Strup-Perrot C, Vozenin-Brotans MC, Vandamme M, Benderitter M, Mathe D. Expression and activation of MMP -2, -3, -9, -14 are induced in rat colon after abdominal X-irradiation. *Scand J Gastroenterol* 2006;41(1):60-70.
41. Kerem M, Bedirli A, Karahacioglu E, et al. Effects of soluble fiber on matrix metalloproteinase-2 activity and healing of colon anastomosis in rats given radiotherapy. *Clin Nutr* 2006;25(4):661-70.
42. Bedirli A, Kerem M, Karahacioglu E et al. Effects of two conventional preoperative radiation schedules on anastomotic healing in the rat colon. *Eur Surg Res* 2007;39(3):141-7.
43. Enestvedt CK, Thompson SK, Chang EY, Jobe BA. Clinical review: Healing in gastrointestinal anastomoses, part II. *Microsurgery*. 2006;26(3):137-43.
44. Petersen S, Freitag M, Hellmich G, Ludwig K. Anastomotic leakage: impact on local recurrence and survival in surgery of colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 1998;13(4):160-3.
45. Agren MS, Jorgensen LN, Delaissé JM. Matrix metalloproteinases and colon anastomosis repair: a new indication for pharmacological inhibition? *Mini Rev Med Chem* 2004 Sep;4(7):769-78.
46. Brooks PC, Strömblad S, Sanders LC, et al. Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin alpha v beta 3. *Cell* 1996;85(5):683-93.
47. Liotta LA, Thorgeirsson UP, Garbisa S. Role of collagenases in tumor cell invasion. *Cancer Metastasis Rev* 1982;1(4):277-88.
48. Aparicio T, Kermorgant S, Dessirier V, Lewin MJ, Lehy T. Matrix metalloproteinase inhibition prevents colon cancer peritoneal carcinomatosis development and prolongs survival in rats. *Carcinogenesis* 1999;20(8):1445-51.
49. Luo HZ, Zhou ZG, Yang L, et al. Clinicopathologic and prognostic significance of MMP-7 (matrilysin) expression in human rectal cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2005 Dec;35(12):739-44.
50. Angeli F, Koumakis G, Chen MC, Kumar S, Delinassios JG. Role of stromal fibroblasts in cancer: promoting or impeding? *Tumour Biol* 2009;30(3):109-20.
51. Law WL, Choi HK, Lee YM, Ho JW, Seto CL. Anastomotic leakage is associated with poor long-term outcome in patients after curative colorectal resection for malignancy. *J Gastrointest Surg* 2007;11(1):8-15.
52. Marra F, Steffen T, Kalak N et al. Anastomotic leakage as a risk factor for the long-term outcome after curative resection of colon cancer. *Eur J Surg Oncol* 2009;35(10):1060-4.
53. McArdle CS, McMillan DC, Hole DJ. Impact of anastomotic leakage on long-term survival of patients undergoing curative resection for colorectal cancer. *Br J Surg*. 2005 Sep;92(9):1150-4.
54. Ptok H, Marusch F, Meyer F, et al Impact of anastomotic leakage on oncological outcome after rectal cancer resection. *Br J Surg* 2007;94(12):1548-54.
55. Walker KG, Bell SW, Rickard MJFX, et al. Anastomotic Leakage Is Predictive of Diminished Survival After Potentially Curative Resection for Colorectal Cancer. *Ann Surg* 2004; 240(2): 255–259.
56. Curran S, Dundas SR, Buxton J, Leeman MF, Ramsay R, Murray GI. Matrix metalloproteinase/tissue inhibitors of matrix metalloproteinase phenotype identifies poor prognosis colorectal cancers. *Clin Cancer Res*. 2004;10(24):8229-34.
57. Sørensen NM, Schroll AS, Jensen V, et al. Comparative studies of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in plasma, serum and tumour tissue extracts from patients with primary colorectal cancer. *Scand J Gastroenterol* 2008;43(2):186-91.
58. Kurokawa S et al Tumour matrilysin expression predicts metastatic potential of stage I (pT1) colon and rectal cancers. *Gut* 2005;54(12): 1751-1758.
59. Pasternak B, Matthiessen P, Jansson K, Andersson M, Aspenberg P. Elevated intraperitoneal matrix metalloproteinases-8 and -9 in patients who develop anastomotic leakage after rectal cancer surgery: a pilot study. *Colorectal Dis* 2009 [Epub ahead of print].
60. Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002;3(3):207–214.
61. Bruce A et al. In: *Molecular Biology of Cell*. 4ª edição. New York and London: Garland Science; 2002.
62. Liebich HG. *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere: Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis*. Schattauer GmbH, Stuttgart, Germany. 2004.
63. Rudek MA, Venitz J, Figg WD. Matrix metalloproteinase inhibitors: do they have a place in anticancer therapy? *Pharmacotherapy* 2002;22(6):705-20. Disponível em www.medscape.com/viewarticle/438845 - acessado em Janeiro/2010.

Endereço para Correspondências:

EDNA DELABIO-FERRAZ
Rua Gonçalves Crespo 296/504
CEP 20270-320
Rio de Janeiro, RJ, Brasil
E-mail: ednadelabio@yahoo.com.br