

Facultad de Estomatología
Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana

ENZIMAS PROTEOLÍTICAS RELACIONADAS CON LA ENFERMEDAD PERIODONTAL INFLAMATORIA

*Dra. Bárbara E. García Triana,¹ Dr. Agustín Vicedo Tomey,² Dr. José C. García Piñeiro³
y Dr. Alberto Saldaña Bernabeu⁴*

RESUMEN: La enfermedad periodontal inflamatoria ocasiona la destrucción de los tejidos que protegen y soportan al diente; es por eso de gran importancia el papel que pueden desempeñar las enzimas que sean capaces de degradar la matriz del tejido conectivo, como las enzimas proteolíticas. Existen evidencias de que las metaloproteinasas de la matriz, las proteasas leucocitarias y las bacterianas, pueden participar en la etiopatogenia de esta enfermedad. Su acción es regulada en los tejidos, por la presencia de inhibidores específicos, de manera que un desbalance proteasas-inhibidores a favor de los primeros, conduciría a la destrucción de las proteínas de la matriz del tejido conectivo. A su vez, en la actividad proteolítica influyen diferentes factores, que de manera global, inducen un fenotipo degradativo o formativo, y que por lo tanto, podrían estar involucrados en la etiopatogenia de la enfermedad periodontal inflamatoria.

Descriptores DeCS: PERIODONTITIS/enzimología; PEPTIDO HIDROLASAS/metabolismo; PERIODONTITIS/etiología.

La enfermedad periodontal inflamatoria (EPI), es un proceso que afecta a los tejidos que protegen y soportan al diente,¹ y cuyos factores etiológicos pueden ser locales o generales. El íntimo contacto de los primeros con los tejidos periodontales, los hace responsables directos del inicio y desarrollo de la EPI, mientras que los facto-

res generales actúan modificando la respuesta del huésped.^{1,2}

La destrucción del tejido conectivo constituye un evento crucial para el avance de la EPI desde la encía hacia los tejidos profundos. De ahí la importancia de la función que pueden desempeñar enzimas que sean capaces de degradar la matriz del teji-

¹ Profesor Asistente. Facultad de Estomatología.

² Profesor Titular. ICBP "Victoria de Girón".

³ Investigador Titular. ICBP "Victoria de Girón".

⁴ Profesor Asistente. Instituto Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Díaz Soto".

do conectivo y fundamentalmente las fibras colágenas. Las candidatas por excelencia para este rol son las enzimas proteolíticas (proteasas). Las posibles fuentes de estas enzimas son: las bacterias presentes en el surco gingival, los fibroblastos gingivales, las células endoteliales y los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (PMN) y macrófagos, que son atraídos hacia el surco gingival como consecuencia de los eventos inflamatorios.³

Existen evidencias que señalan a las proteasas como involucradas en la etiopatogenia de la EPI.⁴⁻⁹ Esto sugiere que la determinación de su actividad en el fluido gingival crevicular (FGC), podría tener valor diagnóstico, pronóstico y terapéutico. Por lo tanto, nos vimos motivados a profundizar en el conocimiento de las enzimas proteolíticas involucradas en la EPI, así como en su regulación.

Enzimas proteolíticas

Las enzimas proteolíticas catalizan la hidrólisis de enlaces peptídicos de péptidos y proteínas. Su síntesis se realiza en forma de zimógeno, de mayor peso molecular, que posteriormente es activado por proteólisis.¹⁰

Se pueden clasificar en 2 grandes grupos: peptidasas (exopeptidasas) y proteinasas (endopeptidasas). Las peptidasas actúan sobre los enlaces peptídicos de los extremos de la cadena y pueden ser aminopeptidasas o carboxipeptidasas. Las proteinasas actúan en el interior de la cadena y se clasifican de acuerdo con la identidad del residuo catalítico primario. Así pueden ser: serinproteinasas, cisteinilproteinasas, aspartilproteinasas y metaloproteinasas.

Las proteasas relacionadas con la EPI, son proteinasas. Las más estudiadas son las siguientes:

METALOPROTEINASAS DE LA MATRIZ (MMP)

Estas presentan un átomo metálico como residuo catalítico primario, generalmente un átomo de Zn^{2+} .

- *Colagenasas (MMP-1 y MMP-8)*: presentan un peso molecular de alrededor de 54 kDa en su forma latente y su sustrato es el colágeno presente en la matriz del tejido conectivo.^{5,11}

Su acción consiste en la catálisis de una ruptura única en las cadenas α del colágeno intersticial tipos I, II y III. Se generan así fragmentos de 1/4 y 3/4 de colágeno. También presentan cierta actividad gelatinasa. Son incapaces de actuar sobre el colágeno tipo IV.¹¹

Se sabe que estas enzimas están relacionadas con la destrucción hística en la enfermedad periodontal.¹² La colagenasa de vertebrado es producida por fibroblastos, células epiteliales y macrófagos. Degrada a mayor velocidad al colágeno tipo I que al II, y se ha encontrado incrementada en el FGC de pacientes con periodontitis juvenil.^{4,12} La colagenasa producida por los PPM se nombra colagenasa de neutrófilo (MMP-8) y se distingue por el hecho de que degrada a los colágenos I y II a igual velocidad. Se ha detectado su actividad en el FGC de pacientes con periodontitis del adulto.^{4,5,12}

- *Gelatinasas (MMP-2 y MMP-9)*: el peso molecular es de 72 kDa en su forma latente para la enzima producida por los fibroblastos gingivales (gelatinasa A o tisular, [MMP-2]). La producida por los PMN tiene un peso molecular de 92 kDa (gelatinasa B o de neutrófilo, [MMP-9]).⁵

Su acción consiste en hidrolizar los productos de la ruptura del colágeno por

las colagenasas, siempre que estén desnaturalizados. También presentan actividad colagenasa tipo IV. Además actúan sobre otras moléculas de la matriz del tejido conectivo asociadas con el colágeno.

Ambos tipos de gelatinasas se han encontrado en el FGC de pacientes con periodontitis del adulto y periodontitis juvenil localizada.¹² La gelatinasa de 92 kDa se ha detectado también en el exudado inflamatorio de sitios con periodontitis experimental en monos *cynomolgus*.⁵

- *MMP-V*: es producido por células osteoblásticas, fibroblastos gingivales y del ligamento periodontal. Su peso molecular en forma latente es de 54 kDa. Actúa catalizando la ruptura de los fragmentos de 1/4 y 3/4 de colágeno "nativos" tipos I, II y III, originados por la acción de la colagenasa y sobre los cuales la gelatinasa no puede actuar. De ahí la importancia de la acción de la MMP-V.¹¹

Se ha demostrado la existencia de esta enzima de manera predominante, en el FGC de sitios con periodontitis del adulto, severamente inflamados. Por otra parte, la demostración del origen osteoblástico de esta proteasa, apoya el planteamiento de que los osteoblastos intervienen en la reabsorción ósea activa. Por ejemplo, se ha sugerido que la degradación osteoide localizada por parte de los osteoblastos, es necesaria para la exposición de la matriz mineralizada subyacente.¹¹

- *Estromelisina (MMP-3)*: su peso molecular en forma latente es de 54 kDa. Presenta una especificidad de sustrato mucho más amplia.¹³ Cataliza la ruptura del colágeno tipo IV y de diferentes moléculas de la matriz asociadas con las fibras colágenas. Entre ellas fibronectina,

laminina y proteoglicanos. También presenta actividad gelatinolítica limitada. Se ha reportado un incremento preferencial de la actividad de MMP-3 con respecto a MMP-1 en la encía afectada por periodontitis. Esto podría ser relevante en la destrucción hística, debido a su amplio espectro y a su capacidad de actuar a otras MMP.^{14,15}

ELASTASA LEUCOCITARIA Y CATEPSINA G

Ambas son producidas por los PMN. Son serinproteinasas. En contacto con células epiteliales gingivales en cultivo, provocan la desunión de éstas presumiblemente por degradación de la matriz intercelular.¹⁶ Se ha reportado la elevación sitio-específica de los niveles de elastasa en el FGC en pacientes con periodontitis destructiva severa.¹⁷

ARGININGIPAÍNA

Es una cisteinilproteinasas específica para la arginina. Su origen es bacteriano: *Porphyromonas gingivalis* (PG), un anaerobio comúnmente asociado con la enfermedad periodontal progresiva. La enzima se compone de una única cadena polipeptídica de peso molecular de 44 kDa. Sus propiedades enzimáticas revelan varias características distintivas: la actividad proteolítica es absolutamente tiol-dependiente; sin embargo, la enzima también tiene en parte características tanto de metalo como de serinproteinasas. Es capaz de evadir los sistemas de defensa normales del hospedero, pues no es inhibida por inhibidores de proteasas endógenas. A pesar de su estrecha especificidad, degrada extensivamente los colágenos tipos I y

IV y la inmunoglobulina G.¹⁸ Lo más importante es que la enzima tiene la habilidad de interrumpir las funciones de los PMN. Estos datos sugieren que la argingipaína desempeña una función fundamental como factor de virulencia de la PG en el desarrollo de la EPI.¹⁸

Regulación de la actividad proteolítica en los tejidos

El control celular se realiza a varios niveles, que incluye: síntesis y secreción, activación e inhibición.¹²

INHIBIDORES TISULARES DE PROTEASAS

El papel de los inhibidores de proteasas en la etiopatogenia de la EPI, adquiere gran relevancia, puesto que un desbalance inhibidores/proteasas a favor de las últimas, puede desencadenar la destrucción de los tejidos periodontales.

Dentro de los inhibidores tisulares o endógenos de proteasas, se encuentran el inhibidor tisular de metaloproteinasa-1 (TIMP-1) y el inhibidor tisular de metaloproteinasa-2 (TIMP-2).¹³

El inhibidor principal es TIMP-1, una glicoproteína de 30 kDa. Es sintetizado por mesénquima, epitelios y algunas células de la inflamación. También se encuentra en sangre como β -1 anticolagenasa. Parece estar relacionado con la regulación de la actividad de la colagenasa durante el remodelado hístico, inflamación, salida del diente y cicatrización. Ha sido también encontrado en el FGC de la gingiva sana, pero

decrece su concentración mientras aumenta el grado de la inflamación. Al parecer está involucrado en la regulación de otras metaloproteinasas, como son: MMP-2, MMP-3 y MMP V, a las cuales puede inactivar cuando son liberadas a los tejidos bucales.¹³ El TIMP-2 es particularmente activo para la MMP-2.¹³

Otro factor importante en la concentración de la actividad proteolítica en la inflamación, es el inhibidor de amplio espectro α -2-macroglobulina. Se considera que mientras los TIMP funcionan pericelularmente, la α -2-macroglobulina lo hace en los fluidos corporales.⁹ En el FGC de sitios con periodontitis, se ha reportado su conversión a una forma inactiva.¹⁹

CITOCINAS

En la regulación de la síntesis y actividad de las proteinasas y sus inhibidores, intervienen diferentes factores, como por ejemplo las citocinas: factor de crecimiento transformante- β (TGF- β)²⁰ e interleucina-1 α (IL-1 α).²¹ Ambas han sido relacionados con la EPI.⁹

El TGF- β 1 actúa de una forma concentrada que conduce a la formación de componentes extracelulares de la matriz. Suprime la actividad proteolítica mediante la reducción de la síntesis de proteinasas y el incremento de la expresión de inhibidores.²⁰ La IL-1 α , por el contrario, induce un fenotipo degradativo, al estimular la actividad de MMP.²¹

Durante el inicio y desarrollo de la EPI, las proteínas de la matriz del tejido conectivo son degradadas por la acción de proteasas como: las metaloproteinasas de la matriz, la elastasa y catepsina G leucocitarias y la argingipaína bacteriana. La regulación de la actividad proteolítica

en los tejidos periodontales , se realiza a través de diferentes factores , por ejemplo: TGF- β e IL-1 α , que actúan simultáneamen-

te sobre las proteínas del tejido conectivo, las proteasas y sus inhibidores, induciendo un fenotipo degradativo o formativo.

SUMMARY: The periodontal disease brings about the destruction of the protective and supporting tissues of the teeth, therefore, the role of enzymes capable of degrading connective tissue matrix is of great importance. There are evidences of the possible involvement of the matrix metalloproteinases, leukocyte proteases and bacterial proteases in the pathogenesis of such disease. Their action is controlled by specific inhibitors in the tissues. This means that any protease-inhibitor imbalance favouring the presence of proteases may lead to the destruction of matrix connective tissue. In turn, proteolytic activity is influenced by different factors that globally induce a degradative or formative phenotype, and thus, may be involved in the pathogenesis of the periodontal disease.

Subject headings: PERIODONTITIS/enzymology; PEPTIDE HYDROLASES/metabolism; PERIODONTITIS/etiology.

Referencias bibliográficas

1. Seguí O. Epidemiología de las periodontopatías. Rev Cubana Estomatol 1978;15:148-59.
2. Borges C. Estudio epidemiológico de la enfermedad parodontal. Rev Cubana Estomatol 1984;21:273-9.
3. Woolley DE, Evanson JM. Collagenases in normal and pathological connective tissues. New York: John Wiley and Sons Ltd, 1980:8-10.
4. Suomalainen K, Sorsa T, Saxen L, Vauhkonen M, Uitto VJ. Collagenase activity in gingival crevicular fluid of patients with juvenile periodontitis. Oral Microbiol Immunol 1991;6:24-9.
5. Overall CM, Sodek J, McCulloch CA, Birek P. Evidence for polymorphonuclear leukocyte collagenase and 72-KD gelatinase in gingival crevicular fluid. Infect Immunol 1991;59:4687-92.
6. Makela M, Soderling E, Paunio K, Talonpoika J, Hyyppa T. Protein composition of crevicular fluid before and after treatment. Scand J Dent Res 1991;99:413-23.
7. Tremble PM, Damsky CH, Werb Z. Fibronectin fragments, but not intact fibronectin, signalling through the fibronectin receptor induce metalloproteinase gene expression in fibroblast. Matrix Supplement 1992;1:212-4.
8. Vernillo AT, Ramamurthy NS, Golub LM, Rifkin BR. The nonantimicrobial properties of tetracycline for the treatment of periodontal disease. Curr Opin Periodontol 1994;112:111-8.
9. Ryan ME, Ramamurthy S, Golub LM. Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. Curr Opin Periodontol 1996;3:85-96.
10. Barrett AJ. The classification of proteinases. En: Evered D, Whelan J, eds. Protein degradation in health and diseases. Amsterdam: Excerpta Medica, 1980:3.
11. Overall CM, Sodek J. Initial characterization of a neutral metalloproteinase, active on native $\frac{3}{4}$ -collagen fluid. J Dent Res 1987;66:1271-82.
12. Sorsa T, Saari H, Kontinen YT, Suomalainen K, Lindy S, Uitto VJ. Non-proteolytic activation of latent human neutrophil collagenase and its role in matrix destruction in periodontal diseases. Int J Tissue React 1989;11:153-9.
13. Drouin L, Overall CM, Sodek J. Identification of matrix metalloendoproteinase inhibitor (TIMP) in human parotid and submandibular saliva: partial purification and characterization. J Periodontol Res 1988;23:370-7.
14. Kubota T, Nomura T, Takahashi T, Hara K. Expression of mRNA for matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in periodontitis-affected human gingival tissue. Arch Oral Biol 1996;41:253-62.
15. Haerian A, Adonogianaki E, Mooney J, Docherty JP, Kinane DF. Gingival crevicular stromelysin, collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases levels in healthy and diseased sites. J Clin Periodontol 1995;22:505-9.

16. Altman LC, Baker C, Fleckman P, Luchtel D, Oda D. Neutrophil-mediated damage to human gingival epithelial cells. *J Periodontol Res* 1992;27:70-9.
17. Jin LJ, Soder PO, Adman B, Bergstrom K. Granulocyte elastase in gingival crevicular fluid: improved monitoring of the site-specific response to treatment in patients with destructive periodontitis. *J Clin Periodontol* 1995;22:240-6.
18. Yamamoto K. Studies on periodontal pathogenic proteinases from *Porphyromonas gingivalis* and host cells. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1995;105:345-55.
19. Rosin M, Benjamin P, Rogers P, Gibson M, Van-Leuven F, Johnson NW, Curtis M. Elevated conversion of alpha-2-macroglobulin to the complexed form in gingival crevicular fluid from adult periodontitis patients. *J Periodontol Res* 1995;30:436-44.
20. Overall CM, Wrana JL, Sodek J. Transcriptional and posttranscriptional regulation of 72-kDa gelatinase/type IV collagenase by transforming growth factor-beta 1 in human fibroblasts. *J Biol Chem* 1991;266:14064-71.
21. Scheller M, Zimmermann B, Bernimoulin JP, Scholz P. Induction of metalloproteinase activity, cartilage matrix degradation and inhibition of endochondral mineralization in vitro by *E. Coli* lipopolysaccharide is mediated by interleukin 1 alpha. *Cytokine* 1995; 7:331-7.

Recibido: 30 de enero de 1998. Aprobado: 25 de febrero de 1998.

Dra. *Bárbara E. García Triana*. Facultad de Estomatología. Salvador Allende esq. Ayestarán, CP 10300, Ciudad de La Habana, Cuba.