

MATRIZ METALOPROTEINASES NA REPARAÇÃO CORNEAL. REVISÃO DE LITERATURA.

Cintia Sesso Perches¹
Cláudia Valéria Seullner Brandão^{2*}
José Joaquim Tilton Ranzani²
Noeme Sousa Rocha³
Maria Guadalupe Sereno¹
Joice Furtado Fonzar¹

RESUMO

As Matriz Metaloproteinasas (MMPs) são enzimas proteolíticas que têm a função de manutenção e remodelamento da arquitetura tecidual. Elas atuam sobre componentes da matriz extracelular, secretam citocinas e moléculas da superfície ocular, e têm sido relacionadas a uma série de processos fisiológicos e doenças, como úlceras corneais, que estão entre as afecções de maior ocorrência na oftalmologia veterinária. Após lesão corneal, múltiplos sistemas são ativados, produzindo uma série de processos celulares complexos e coordenados que envolvem fatores de crescimento, citocinas, proteinases e seus inibidores, resultando na reparação da córnea. As principais proteinases presentes na córnea são as MMPs e as proteinases serinas. Um desequilíbrio entre proteinases e seus inibidores, em favor das proteinases, provoca uma degradação patológica do colágeno estromal e proteoglicanas, levando a uma ulceração corneal persistente ou ao “melting” corneal, podendo ocasionar a perda da visão do animal. O objetivo desta revisão é apresentar os principais estudos relacionados ao envolvimento das MMPs durante a reparação corneal e seus processos patológicos.

Palavras-chave: matriz metaloproteinasas, córnea, ceratite ulcerativa, reparação tecidual

MATRIX METALLOPROTEINASES IN CORNEAL REPAIR. REVIEW

ABSTRACT

The Matrix Metalloproteinases (MMPs) are proteolytic enzymes that have the function of maintenance and remodeling of tissue architecture. They act on the extracellular matrix components, secrete cytokines and molecules of the ocular surface, and have been related to a variety of physiological processes and diseases, such as corneal ulcers, which are one of the most frequent diseases in veterinary ophthalmology. After corneal injury, multiple systems are activated, producing a serie of complex and coordinated cellular processes involving growth factors, cytokines, proteinases and their inhibitors, resulting in the repair of the cornea. The main proteinases present in the cornea are MMPs and serine proteinases. An imbalance between proteinases and their inhibitors in favor of the proteinases, cause pathologic degradation of stromal collagen and proteoglycans, leading to a persistent corneal ulceration

¹ Médica Veterinária Doutoranda em Cirurgia Veterinária pelo Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Distrito de Rubião Junior – s/n – Botucatu/ SP/ Brasil

² Médicos Veterinários Docentes do Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Distrito de Rubião Junior – s/n – Botucatu/ SP/ Brasil

³ Médica Veterinária Docente do Departamento de Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Distrito de Rubião Junior – s/n – Botucatu/ SP/ Brasil

*Autor Correspondente: Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil. Distrito de Rubião Junior, s/n, 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: valeriasb@fmvz.unesp.br (C.V.S. Brandão)

or corneal melting, and may result in the loss of animal vision. The aim of this review is to present the main studies related to the involvement of MMPs during corneal repair and their pathological processes.

Keywords: matrix metalloproteinases, cornea, ulcerative keratitis, tissue repair

METALOPROTEINASAS DE MATRIZ EN LA REPARACIÓN DE LA CORNEA. REVISIÓN DE LITERATURA.

RESUMEN

Las metaloproteinasas de matriz (MMPs) son un grupo de enzimas proteolíticas con la función de mantener y remodelar los tejidos. Estas actúan sobre componentes de la matriz extracelular, secretan citocinas y moléculas de la superficie ocular y han sido asociadas a una serie de procesos fisiológicos y enfermedades, por ejemplo las úlceras de córnea, mismas que se encuentran entre las afecciones oftalmológicas más comunes en la medicina veterinaria. Luego de una lesión en la córnea, varios sistemas se activan desencadenando una serie de procesos celulares complejos y coordinados que envuelven factores de crecimiento, citocinas, proteinasas y sus inhibidores, lo que trae como resultado la reparación corneal. Las principales proteinasas presentes en la córnea son las MMPs y las serinas proteinasas. Un desequilibrio entre las proteinasas y sus inhibidores, a favor de las primeras provoca la degradación patológica del colágeno y de los proteoglicanos del estroma llevando a una úlcera corneal persistente o a “melting” corneal, con la posible pérdida de la visión del animal. El objetivo de la presente revisión es exponer los principales estudios relacionados a las MMPs durante la reparación corneal y sus manifestaciones patológicas.

Palabras clave: metaloproteinasas de matriz, córnea, queratitis ulcerativa, reparación de tejidos.

INTRODUÇÃO

A córnea é a estrutura anterior e transparente da túnica fibrosa do bulbo ocular, sendo responsável pela refração da luz, permitindo a sua entrada no olho, com qualidade e quantidade suficientes para que a imagem possa ser formada na retina. Devido à sua exposição constante ao meio ambiente, a córnea é muito suscetível às lesões, o que justifica o fato de úlcera corneal estar entre as doenças oculares mais comuns (1).

Após lesão corneal, múltiplos sistemas são ativados, produzindo uma série de processos celulares complexos e coordenados que resultam na sua completa reparação. Estes envolvem proteinasas e seus inibidores, fatores de crescimento e citocinas produzidos por células epiteliais, ceratócitos estromais, células inflamatórias e glândulas lacrimais (2). As principais proteinasas presentes na córnea são as matriz metaloproteinases (MMPs) e as proteinasas serinas (1).

As MMPs são uma família de enzimas proteolíticas que têm a função de manutenção e remodelamento da arquitetura tecidual (3).

Um desequilíbrio entre proteinasas e seus inibidores, em favor das proteinasas, provoca a degradação patológica do colágeno estromal e proteoglicanas, levando a uma ulceração corneal persistente ou ao “melting” corneal (2).

Assim, vários estudos sobre MMPs têm sido realizados com o intuito de esclarecer os processos fisiológicos que ocorrem durante a reparação celular, além de estudar as alterações ocorridas durante processos patológicos (2, 4).

Reparação da córnea

A córnea é composta por cinco camadas: filme lacrimal pré-corneal, epitélio e sua membrana basal, estroma, membrana de Descemet e endotélio. O epitélio corneal é simples, escamoso e não queratinizado, de espessura variável (inferior a 1mm), com padrão básico de membrana basal, células epiteliais basais, células aladas e células superficiais escamosas. O epitélio corneal é renovado constantemente pela proliferação por mitose das células da camada basal (5, 6). O estroma representa 90% da espessura corneal (7) e consiste principalmente de fibrilas colágenas, ceratócitos, nervos e glicosaminoglicanas. As fibrilas colágenas estão dispostas em lamelas paralelas à superfície corneal, característica importante para a transparência corneal. Também são encontrados no estroma, colágeno tipo VI e XII, que não estão na forma de fibrilas, entretanto interagem com estas e são igualmente importantes fisiologicamente (1).

A camada epitelial apresenta grande capacidade de regeneração, assim após lesão, o epitélio normal da borda do defeito achata-se, retrai e fica espessado, perdendo seus hemidesmossomos que estavam ligados à membrana basal. Em seguida, as células entram em mitose e deslizam em direção ao centro da lesão, preenchendo o defeito (1). Dentro de 4 a 7 dias ou menos toda a córnea é reepitelizada (5, 6).

Defeitos estromais superficiais são preenchidos por deslizamento de células epiteliais que sofrem mitose. Em defeitos profundos, o epitélio rapidamente recobre a superfície, porém o preenchimento estromal requer síntese e reticulação de colágeno, síntese de proteoglicanas e remodelamento gradual da ferida (1). Cicatrização avascular ocorre em lesões estromais descomplicadas, enquanto a vascular ocorre em lesões infectadas e destrutivas (6).

Após ser lesionado, o epitélio pode sintetizar colágeno e estimular a síntese deste por fibroblastos e ceratócitos, além de secretar collagenases. A presença de collagenases e proteinases no processo de reparação tecidual pode influenciar negativamente a cicatrização. Outros fatores que também influenciam a reparação incluem os fatores peptídeo de crescimento, como fator de crescimento epidermal (EGF), fator beta transformador do crescimento (TGF β) e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). O EGF aumenta a síntese protéica e mitose dos fibroblastos epiteliais e estromais, enquanto o PDGF estimula a produção de fibronectina, ácido hialurônico e collagenase, e o TGF β estimula a síntese de matriz extracelular e quimiotaxia de células inflamatórias (1).

Para o sucesso dos procedimentos terapêuticos deve-se, primordialmente, realizar a identificação e a eliminação da causa, tendo como objetivo a restauração e a preservação da córnea. Entre os procedimentos clínicos adotados, encontram-se a terapia antibiótica, os analgésicos, os agentes lubrificantes, a atropina e as drogas antiproteases, como EDTA, acetilcisteína, soro autólogo e ilomostat (1, 8).

Matriz Metaloproteinases

O primeiro relato sobre matriz metaloproteinases (MMPs) ocorreu em 1962, quando Jerome Gross e Charles Lapiere demonstraram a ação de uma enzima, que posteriormente foi denominada collagenase, na reabsorção de caudas de girinos. Desde então, uma série de estudos têm relacionado processos fisiológicos, como a reparação celular, e patológicos, como úlceras de córnea, às ações enzimáticas das MMPs (9).

O relato da presença de matriz metaloproteinases no olho ocorreu pouco tempo após a sua descoberta, e foi feito por Slansky, Freeman e Itoi (10), que demonstraram sua atividade proteolítica em córneas bovinas saudáveis e ulceradas. Desde então, crescentes estudos têm demonstrado o envolvimento de MMPs no bulbo ocular e em suas afecções (3).

A maioria das matriz metaloproteinasas não são expressadas em níveis detectáveis em tecidos normais e saudáveis. Porém, níveis de MMPs podem ser observados em qualquer tecido inflamado e culturas celulares. Os tipos e quantidades expressadas dessas enzimas variam de acordo com as doenças, neoplasias, inflamações e tipos celulares, já que todo tecido possui matriz extracelular, que necessita das MMPs frente a um processo fisiológico ou patológico de remodelação tecidual (9).

Como regra geral, as matriz metaloproteinasas não são sintetizadas até que seja necessário. Uma série de citocinas e fatores de crescimento podem induzir ou inibir a sua produção, incluindo fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), interleucina-1 (IL-1), fator beta transformador do crescimento (TGF- β), entre outros (3, 11).

Micro-organismos, células inflamatórias, células epiteliais corneais e fibroblastos ativos podem produzir enzimas proteolíticas. As produzidas pelos micro-organismos infecciosos são denominadas proteinasas exógenas, enquanto as demais são denominadas proteinasas endógenas. As enzimas produzidas por bactérias ou fungos podem agir na córnea lesionada de forma direta, ou indiretamente pela ativação de proteinasas endógenas (2).

As proteinasas são enzimas hidrolíticas e podem ser distribuídas em quatro classes baseadas no grupo catalítico do seu centro ativo; são elas: serina/treonina, cisteína, aspártico e metalo (9). As MMPs pertencem à classe metalo, dependem de zinco para a sua ação catalítica e são classificadas em cinco grupos: collagenases (MMP-1, MMP-8, MMP-13, MMP-18), gelatinases (MMP-2 e MMP-9), estromalisinas (MMP-3, MMP-10, MMP-11), MMPs tipo membrana (MMP-14, MMP-15, MMP-16, MMP-17, MMP-24, MMP-25) e outros (MMP-7, MMP-12, MMP-20 e MMP-26) (Tabela 1) (9, 12, 13). Normalmente são secretadas como pró-enzimas e ativadas no meio extracelular, entretanto existem MMPs que integram membranas e agem na região pericelular (3).

As collagenases reconhecem colágeno tipo I, II e III; as gelatinases degradam colágeno tipo IV, V e VII, decorina, fibronectina e laminina; as estromalisinas e matrilisinas atuam sobre colágeno tipo IV, pró-colágeno, colágeno “*cross-link*”, fibronectina, laminina e ativam outras MMPs; e as MMPs tipo membrana estão envolvidas em atividades pericelulares (3, 13). Entretanto, pesquisas constantes têm demonstrado novas funções das MMPs e indicam uma grande capacidade de expansão na lista de potenciais alvos de suas ações (3).

Recentemente, Treumer et al. (14) descreveram, após estudo imuno-histoquímico, a presença de MMP-19 em células basais do epitélio após ceratites ulcerativas, porém sua exata função ainda não foi estabelecida na córnea.

Tabela 1. Principais matriz metaloproteinasas encontradas na córnea.

Grupo	MMP	Nome enzimático
Collagenases	MMP-1	Colagenase intersticial
	MMP-8	Neutrófilo colagenase
	MMP-13	Colagenase-3
Gelatinases	MMP-2	Gelatinase A
	MMP-9	Gelatinase B
Estromalisinas	MMP-3	Estromalisina-1
	MMP-10	Estromalisina-2
	MMP-11	Estromalisina-3
MMPs tipo membrana	MMP-14	MT1-MMP
	MMP-16	MT3-MMP
	MMP-17	MT4-MMP
	MMP-24	MT5-MMP
	MMP-25	MT6-MMP
Outras	MMP-7	Matrilisina
	MMP-26	Matrilisina-2
	MMP-12	Macrófago metaloelastase

MMP – Matriz Metaloproteínase. Fonte: Brooks e Ollivier (12)

Os inibidores teciduais de MMPs (TIMPs) estão presentes no meio extracelular e têm a capacidade de ligarem-se ao sítio ativo das MMPs, inativando-as (15). Há pelo menos 4 TIMPs conhecidos, que têm, além da função de inibir a atividade das MMPs, um papel importante no crescimento celular, diferenciação e apoptose (3).

As proteinases serinas são outra classe de enzimas que também atuam na córnea. A neutrófilo elastase é a proteinase serina mais abundante na lágrima e é sintetizada por polimorfonucleares e macrófagos. Ela degrada colágeno tipo III e IV, laminina e fibronectina (12).

A atividade das MMPs é altamente controlada por sua transcrição, ativação da pro-enzima e inibição da enzima ativa por TIMPs. As MMPs podem ser ativadas por componentes não proteolíticos, proteinases serinas, MT-MMPs ou podem ser ativadas no meio intracelular (12).

As matriz metaloproteinases tipo membrana (MT-MMPs) estão associadas às membranas celulares e têm funções importantes na sinalização celular e proteólises pericelulares. A MT1-MMP (MMP14) é a melhor caracterizada, e é responsável pela ativação da MMP-2 pela sua interação com a TIMP-2, além de atividades proteolíticas pericelulares (16).

Diversos estudos em camundongos com genes inativados vêm demonstrando o envolvimento das MMPs no desenvolvimento de várias doenças. A inativação da gelatinase B (MMP-9) retardou a vascularização e ossificação das linhas de crescimento ósseo (17), além de diminuir a fertilidade (18). A ausência de MT1-MMP levou ao desenvolvimento progressivo de artrite e nanismo (19). Assim, os trabalhos com camundongos “*knockout*” provocaram leves alterações de fenótipos, sugerindo que há uma sobreposição de funções entre as MMPs (3).

As matriz metaloproteinases também têm sido associadas à progressão de neoplasias, favorecendo a invasão tecidual, neovascularização e metástases. Estudos imuno-histoquímicos têm correlacionado a alta expressão de MMPs com malignidade tumoral (3, 16).

Matriz metaloproteinases e reparação corneal

O reparo da matriz extracelular do estroma requer um balanço coordenado de síntese, degradação e remodelação estromal. A degradação excessiva do tecido saudável é prevenida por inibidores naturais de proteinases presentes na córnea e no filme lacrimal; dentre eles encontram-se inibidor de proteinase- α 1, macroglobulina- α 2 e matriz metaloproteinases (MMPs) junto com inibidores teciduais de MMPs (TIMPs). Um desequilíbrio entre proteinases e seus inibidores, em favor das proteinases, provoca degradação patológica do colágeno estromal e proteoglicanas, levando a uma ulceração corneal persistente ou o “*melting*” corneal (2).

A bactéria *Pseudomonas* produz dois tipos de MMPs, denominadas elastase e protease alcalina, que são responsáveis por ceratites ulcerativas agressivas (12).

As principais famílias enzimáticas presentes na córnea são as MMPs e as proteinases serinas. A proteinase serina mais abundante na lágrima humana, canina e equina é a neutrófilo elastase (NE), que é produzida por leucócitos polimorfonucleares e macrófagos. Ela é responsável pela degradação de colágeno tipo III e IV e por componentes da matriz extracelular, como laminina e fibronectina. As MMPs de maior importância na degradação e remodelação do colágeno estromal são as MMP-2 e MMP-9. Por imuno-histoquímica identificou-se as duas enzimas em córneas lesionadas, enquanto a MMP-2 também foi encontrada em córneas saudáveis de várias espécies, como humanos, cães, camundongos, ratos e cavalos (1).

A MMP-2 é produzida por ceratócitos e tem a função de manutenção da córnea saudável, sendo localmente ativada para degradar moléculas de colágeno danificadas,

enquanto a MMP-9 é produzida por células epiteliais e polimorfonucleares após lesões corneais (1). Este padrão foi comprovado em um estudo imuno-histoquímico em córneas equinas saudáveis, onde encontrou-se MMP-2 no epitélio corneal, principalmente na camada superficial, uma pequena quantidade no estroma, logo abaixo do epitélio, e no endotélio. Nas córneas lesionadas foi detectado MMP-2 e MMP-9 no epitélio, em toda a extensão do estroma e no endotélio corneal (20). MMP-2 e MMP-9 também foram observadas no epitélio e estroma anterior de córneas caninas com úlceras em “melting” e traumáticas (21). Em outro estudo, Chandler, Kusewitt e Colitz (22) encontraram essas enzimas no epitélio corneal de úlceras persistentes em cães. Também encontrou-se um aumento dessas enzimas na ceratopatia climática em gota em humanos (23).

Em ceratites ulcerativas de camundongos infectadas por herpesvirus, também foi notada a presença de aumento da quantidade das MMPs 2, 8 e 9 logo após a lesão e um aumento de TIMP-1 e TIMP-2 apenas após 7 dias da lesão, demonstrando um balanço entre as proteinases e seus inibidores durante a reparação corneal (24).

A gelatinase B (MMP-9) é a primeira MMP a ser sintetizada e secretada por células epiteliais basais após lesão corneal, sendo detectado um rápido aumento na sua expressão com apenas um dia após lesão e declínio após poucas semanas, enquanto a gelatinase A (MMP-2), a estromalisina e a colagenase são apresentadas normalmente no estroma corneal e aumentam gradualmente por vários meses, demonstrando o envolvimento na remodelação tecidual (3).

Sakimoto et al. (25) realizaram um estudo comparativo com córneas humanas ulceradas por trauma ou queimadura alcalina, observando a expressão de MMP-2 e MMP-9 ativos, além da presença de MT1-MMP, que é uma das responsáveis pela ativação de MMP-2, e concluíram que, nas córneas lesionadas, todas essas enzimas apresentam-se aumentadas quando comparadas às córneas intactas, demonstrando o envolvimento das gelatinases em doenças da córnea humana.

Em córneas saudáveis de ratos a colagenase III (MMP-13) não é expressada, porém, após apenas 6 horas decorrentes de uma lesão corneal já são detectados níveis de MMP-13 nas células basais do epitélio. Já MT1-MMP é expressada nos ceratócitos estromais tanto em córneas saudáveis de ratos quanto em lesionadas (26).

Segundo Reviglio et al. (27), córneas de ratos saudáveis tratadas com lágrimas artificiais, não expressam MMP-1 e MMP-8. Após a remoção experimental do epitélio corneal, essas enzimas são expressadas principalmente na camada epitelial, como resultado do processo de reparação tecidual normal. Entretanto, córneas, saudáveis ou ulceradas, tratadas com diclofenaco de sódio 0,1% ou ceterolac, apresentaram altos níveis de MMP-1 e MMP-8 no epitélio corneal e estroma. Uma das explicações para essa alta expressão de MMPs em córneas tratadas com anti-inflamatórios não esteroidais é o bloqueio de COX-1, que é uma enzima responsável por funções homeostáticas na córnea, como regulação de prostaglandinas que protegem o tecido de danos e aceleram a cicatrização.

Em córneas ulceradas em “melting” provenientes de pacientes com síndrome primária de Sjögren's, doença sistêmica auto-imune caracterizada pela destruição de glândulas lacrimais e salivares, observou-se um aumento intenso na expressão de MMP-1, 2, 7 e 9, e um aumento moderado de MMP-3 e 8 no epitélio. No estroma foram expressadas em maior quantidade as metaloproteinases 1, 2, 3, 8 e 9. Já no endotélio, houve a expressão apenas de MMP-9 de forma moderada, enquanto a das MMPs 1, 2, 3, 7 e 8 foi fraca (13). Chotikavanich et al. (28) também observaram um aumento de MMP-9 em filme lacrimal de pacientes com síndrome da disfunção lacrimal.

A neovascularização envolve o processo de invasão de células endoteliais, degradação da matriz extracelular e ativação de citocinas, e as MMPs desenvolvem papel importante tanto na angiogênese fisiológica quanto na patológica (3). Muitos fatores de crescimento que regulam a formação de novos capilares sanguíneos, também afetam a expressão de MMPs, incluindo o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento de

fibroblasto-2 (FGF-2), e fator de necrose tumoral α (TNF α) (29, 30). Em um estudo *in vitro* e *in vivo* com ratos, demonstrou-se a importância e interatividade entre MMP-9 e VEGF na formação de novos vasos sanguíneos (31). Enquanto, em outro trabalho, a MT1-MMP apresentou uma ação anti-angiogênica (32).

A MMP-2 também está envolvida na angiogênese, localizando-se na superfície de células endoteliais invasoras, em que a MT1-MMP provavelmente é o seu ativador proteolítico primário (33).

O filme lacrimal de animais com úlceras de córnea possui um nível elevado de proteinases quando comparado ao de animais saudáveis. Estudos analisaram a atividade proteolítica (MMP-2 e MMP-9) de amostras seriadas de filmes lacrimais pré-corneais equinos e chegaram à conclusão que as enzimas proteolíticas apresentam-se elevadas no início da lesão e declinam progressivamente com a reparação corneal. Nas úlceras em “melting” os níveis de metaloproteinases permaneceram elevados, levando a uma rápida progressão da úlcera (34). Portanto, o sucesso do tratamento de úlceras de córnea é um reflexo da atividade proteolítica presente no filme lacrimal pré-corneal (2). Aferições da atividade de MMP no filme lacrimal representam uma das formas de monitorar a progressão da reparação corneal em equinos com ceratite ulcerativa (34).

Alguns trabalhos vêm sendo realizados com o objetivo de se obter inibidores sintéticos de MMPs, já que os inibidores naturais (TIMPs) são farmacologicamente instáveis. A obtenção desses inibidores poderá ser utilizada no tratamento de diversas doenças, como neoplasias, metástases, esclerose múltipla, artrite reumatóide, doença de Alzheimer, falência cardíaca e úlceras de córnea (35).

Os inibidores sintéticos atuam sobre o centro ativo das matriz metaloproteinases e sobre a capacidade catalítica do zinco, inibindo a sua ação. Já foram descritos alguns grupos de inibidores sintéticos, como hidroxamato, que é pouco específico, carboxilato, thiolato, fosfonato e fosfinato, este último sendo efetivo contra as MMPs 2 e 8 (35).

O ilomostat é um ácido hidroxâmico, que possui a capacidade de inibir as MMPs durante o tratamento de ceratites ulcerativas com rápida degradação estromal. Ele é efetivo contra elastase produzida por *Pseudomonas*, MMP-1 e MMP-9. Esse inibidor sintético na concentração de 0,1% apresentou uma taxa de 98,9% de atividade anti-MMP *in vitro* (12).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As matriz metaloproteinases (MMPs) são enzimas proteolíticas com importantes atividades descritas na córnea, tais como envolvimento na síntese, degradação e remodelação estromal, e vascularização corneal; desenvolvem funções homeostáticas na córnea e apresentam grande expressão durante o processo de reparação celular. Existem diversos estudos sobre MMPs, porém ainda são necessárias mais pesquisas relacionando o seu aparecimento às diferentes causas de úlceras de córnea e aos processos de reparação fisiológicos, já que um desequilíbrio entre as MMPs e seus inibidores provoca ulcerações corneais persistentes.

REFERÊNCIAS

1. Gilger BC, Bentley E, Ollivier FJ. Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. In: Gelatt KN. Veterinary ophthalmology. 4th ed. Iowa: Blackwell Publishing; 2007. p.690-752.
2. Ollivier FJ, Gilger BC, Barrie KP, Kallberg ME, Plummer CE, O'Reilly S, et al. Proteinases of the cornea and precocular tear film. Vet Ophthalmol. 2007;10:199-206.

3. Sivak JM, Fini ME. MMPs in the eye: emerging roles for matrix metalloproteinases in ocular physiology. *Prog Retin Eye Res.* 2002;21:1-14.
4. Gan L, Hamberg-Nyström H, Fagerholm P, Setten GV. Cellular proliferation and leukocyte infiltration in the rabbit cornea after photorefractive keratectomy. *Acta Ophthalmol Scand.* 2001;79:488-92.
5. Gelatt KN. Manual de oftalmologia veterinária. Barueri: Manole; 2003.
6. Slatter D. Fundamentos de oftalmologia veterinária. 3ª ed. São Paulo: Roca; 2005.
7. Herrera D. Oftalmologia clínica em animais de companhia. São Paulo: MedVet; 2008.
8. Nasisse MP. Canine ulcerative keratitis. In: Glaze MB. The compendium collection: ophthalmology in small animal practice. 2ª ed. New Jersey: Veterinary Learning Systems; 1996. p.45-57.
9. Parks WC, Mecham RP. Matrix metalloproteinases. San Diego: Academic Press; 1998.
10. Slansky HH, Freeman MI, Itoi M. Collagenolytic activity in bovine corneal epithelium. *Arch Ophthalmol.* 1968;80:496-8.
11. Gordon GM, Ledee DR, Feuer WJ, Fini ME. Cytokines and signaling pathways regulating matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) expression in corneal epithelial cells. *J Cell Physiol.* 2009;221:402-11.
12. Brooks DE, Ollivier FJ. Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2004;34:611-22.
13. Brejchova K, Liskova P, Hrdlickova E, Filipec M, Jirsova K. Matrix metalloproteinases in recurrent corneal melting associated with primary Sjörgen's syndrome. *Mol Vis.* 2009;15:2364-72.
14. Treumer F, Flöhr C, Klettner A, Nölle B, Roider J. Expression of matrix metalloproteinase-19 in the human cornea. Wound healing in the MMP-19 knock-out mouse model. *Ophthalmologe.* 2010;107:647-53.
15. Brew K, Dinakarandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1477:267-83.
16. Fillmore HL, Vanmeter TE, Broaddus WC. Membrane-type matrix metalloproteinases (MT-MMPs): expression and function during glioma invasion. *J Neurooncol.* 2001;53:187-202.
17. Vu TH, Shipley JM, Bergers G, Berger JE, Helms JA, Hanahan D, et al. MMP-9/gelatinase B is a key regulator of growth plate angiogenesis and apoptosis of hypertrophic chondrocytes. *Cell.* 1998;93:411-22.
18. Dubois B, Arnold B, Opdenakker G. Gelatinase B deficiency impairs reproduction. *J Clin Invest.* 2000;106:627-8.

19. Liu Z, Zhou X, Shapiro SD, Shipley JM, Twining SS, Diaz LA, et al. The serpin alpha1-proteinase inhibitor is a critical substrate for gelatinase B/MMP-9 in vivo. *Cell*. 2000;102:647-55.
20. Ollivier F. Matrix metalloproteinase 2, matrix metalloproteinase 9, connective tissue growth factor in the equine tear fluid: possible implications in corneal wound healing [tese]. Gainesville: Universidade da Florida; 2004.
21. Kallberg ME, Brooks DE, Ollivier FJ, Nelligan M, Lewis PA, Gelatt KN. Differences in location of matrix metalloproteinases 2 and 9 in normal and ulcerated canine corneas (abstract). *Vet Ophthalmol*. 2004;7:439.
22. Chandler HL, Kusewitt DF, Colitz CM. Enhanced protease production in refractory corneal ulcers (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2003;44:914.
23. Holopainen JM, Serra HM, Sánchez MC, Sorsa T, Zalentein WN, Barcelona PF, et al. Altered expression of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors as possible contributors to corneal droplet formation in climatic droplet keratopathy. *Acta Ophthalmol*. 2011;89:569-74.
24. Yang Y, Bauer D, Wasmuth S, Steuhl K, Heiligenhaus A. Matrix metalloproteinases (MMP-2 and 9) and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases (TIMP-1 and 2) during the course of experimental necrotizing herpetic keratitis. *Exp Eye Res*. 2003;77:227-37.
25. Sakimoto T, Shoji J, Kanno H, Sawa M. Gelatinase expression in ocular surface disorders. *Jpn J Ophthalmol*. 2004;48:17-22.
26. Ye HQ, Maeda M, Yu FX, Azar DT. Differential expression of MT1-MMP (MMP-14) and collagenase III (MMP-13) genes in normal and wounded rat corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:2894-9.
27. Reviglio VE, Rana TS, Li QJ, Ashraf MF, Daly MK, O'Brien TP. Effects of topical nonsteroidal anti-inflammatory drugs on the expression of matrix metalloproteinases in the cornea. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29:989-97.
28. Chotikavanich S, Paiva CS, Li DQ, Chen JJ, Bian F, Farley WJ, et al. Production and activity of matrix metalloproteinase-9 on the ocular surface increase in dysfunctional tear syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50:3203-9.
29. Mohan R, Sivak J, Ashton P, Russo LA, Pham BQ, Kasahara N, et al. Curcuminoids inhibit the angiogenic response stimulated by fibroblast growth factor-2, including expression of matrix metalloproteinase gelatinase B. *J Biol Chem*. 2000;275:10405-10412.
30. Raza SL, Cornelius LA. Matrix metalloproteinases: pro and anti-angiogenic activities. *J Invest Dermatol*. 2000;5:47-54.
31. Ebrahim Q, Chaurasia SS, Vasanji A, Qi JH, Klenotic PA, Cutler A, et al. Cross-talk between vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinases in the induction of neovascularization in vivo. *Am J Pathol*. 2010;176:496-503.

32. Azar DT, Casanova FH, Mimura T, Jain S, Chang J. Effect of MT1-MMP deficiency and overexpression in corneal keratocytes on vascular endothelial cell migration and proliferation. *Curr Eye Res.* 2008;33:954-62.
33. Haas TL, Davis SJ, Madri JA. Three-dimensional type I collagen lattices induce coordinate expression of matrix metalloproteinases MT1-MMP and MMP-2 in microvascular endothelial cells. *J Biol Chem.* 1998;273:3604-10.
34. Ollivier FJ, Brooks DE, Van Setten GB, Schultz GS, Gelatt KN, Stevens GR, et al. Profiles of matrix metalloproteinase activity in equine tear fluid during corneal healing in 10 horses with ulcerative keratitis. *Vet Ophthalmol.* 2004;7:397-405.
35. Bianchini G, Aschi M, Cavicchio G, Crucianelli M, Preziuso S, Gallina C, et al. Design, modelling, synthesis and biological evaluation of peptidomimetic phosphinates as inhibitors of matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-8. *Bioorg Med Chem.* 2005;13:4740-9.

Recebido em: 13/09/11

Aceito em: 13/09/12