# ASPECTOS ESTRUCTURALES Y FUNCIONALES DE LAS METALOPROTEINASAS DE LA MATRIZ Y SUS INHIBIDORES COMO POTENCIALES TERAPÉUTICOS.

**Lic. Grethel Nereyda Reyes Olazábal**

*Centro de Estudios biotecnológicos. Facultad de Agronomía.*
*Universidad de Matanzas., Carretera a Varadero, km 31/2,*
*Matanzas, Cuba.*

*CD de Monografías 2008*
*(c) 2008, Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos"*

**Resumen.**

Las Metaloproteinasas de la Matriz Extracelular son una familia de endopeptidasas dependientes de $Zn^{2+}$. Por su capacidad de degradar los constituyentes de la matriz extracelular, son enzimas que desempeñan un papel importante en procesos biológicos y patológicos múltiple, por lo que son consideradas blancos para el desarrollo de estrategias terapéuticas. Los avances en el conocimiento de sus mecanismos de activación, la especificidad de sustratos y los mecanismos de inhibición por los inhibidores tisulares de estas enzimas, han permitido el diseño de inhibidores sintéticos de las metaloproteinasas. En esta revisión se pretenden aportar los conocimientos básicos actualizados sobre la estructura-función de las MMP y de sus inhibidores que permiten diseñar a través de herramientas bioinformáticas nuevas estrategias terapéuticas para combatir las enfermedades en que están implicadas.
***Palabras claves****: Metaloproteinasas de la Matriz (MMPs); Inhibidores tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs);Metaloendopeptidasas.*

---

## Introducción.

Las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) o matricinas son una familia de endopeptidasas dependientes de $Zn^{2+}$. Son excretadas por una amplia variedad de células de tejido conectivo y células proinflamatorias tales como: osteocitos, osteoblastos, células endoteliales, macrófagos, neutrófilos y linfocitos. (Freije *et al*.,1994) Basándose en consideraciones estructurales y de especificidad al sustrato, y su localización celular, las MMPs constituyen una superfamilia de proteínas que pueden ser clasificadas dentro de 6 grandes grupos diferentes: colagenasas, gelatinasas, estromalisinas, matrilisinas, metaloelastasas y MMP de membrana. En conjunto, invivo, invitro, degradan todos los tipos de componentes proteicos de la matriz extracelular tales como: colágenos de la membrana basal e intersticial, proteoglicanos, fibronectina y laminita implicándose así en el remodelado tisular del tejido conectivo. La colagenasa (MMP-1, MMP-8 y MMP-13) degradan principalmente colágeno fibrilar, tipo I, II, III y X; las estromelisinas (MMP-3, MMP-10 y MMP-11 y MMP-20) digieren los proteoglicanos y algunas glicoproteínas, las gelatinasas A y B (MMP-2 y MMP-9) tienen una afinidad por la membrana basal (colágenos tipo IV), colágeno desnaturalizado (gelatina), elastina y fibronectina. La matrilisina MMP-7 y metaloelastasas MMP-12 y MMP-19 tiene afinidad similar a las gelatinasas, dividen la fibronectina, laminina y elastina y los proteoglicanos. Las metaloproteinasas tipo membrana (MT1, MT2, MT3 y MT4-MMPs) tiene amplia afinidad de sustrato incluyendo la activación de progelatinasa A.

Los miembros de la familia de las MMP tienen como características:

– Se sintetizan como proenzimas inactivas (zimógenos) que pueden almacenarse en los gránulos de las células inflamatorias, aunque la mayoría se
secretan y se encuentran ancladas a la superficie celular o a otras proteínas de membrana o de la Matriz Extracelular

– Requieren activación para llevar a cabo su acción proteolítica, y es necesario activarlas con un corte proteolítico en el propéptido del dominio aminoterminal. El proceso de activación de las proMMP varía según la enzima, pero suelen intervenir otras proteasas, como el activador de plasminógeno del tipo urocinasa (uPA) y las propias MMP

– El sitio activo (catalítico) contiene zinc y precisa un segundo cofactor como el calcio ($Ca^{2+}$).

– Su actividad enzimática es óptima a pH fisiológico.

Las transcripción de las MMPs es inducida por factores de crecimiento, citoquinas, estrés físico, los oncogenes activados y las interacciones entre la célula -matriz e interacción célula-célula.La estricta regulación de la actividad de las MMPs es necesaria para mantener la homeostasis de los tejidos. En condiciones fisiológicas la actividad proteo lítica de MMP es regulada en diferentes niveles, incluyendo control en la transcripcion, activación extracelular de zimógenos, inhibición de enzimas activas por varios inhibidores tisulares. (Barcenas *et al* .,2004).

Como contrapartida a la actividad de las MMP, existen muchas moléculas endógenas capaces de inhibir su acción: glucocorticoides, TGF, acido retinoico, los inhibidores hísticos de las metaloproteinasas (TIMP) y los inhibidores plasmáticos, como la

macroglobulina α2 su actividad es inhibida por glucocorticoides, TGF, acido retinoico y en un nivel adicional de regulación por los inhibidores no específicos a2-macroglobulinas y los inhibidores de tejido de las metaloproteinasas(TIMP)(Bode et al.,1999) .

.

| Subtipo de MMP | Sustratos principales |
|---|---|
| **Colagenasas** | |
| MMP-1 Colagenasa intersticial | Colágenos I, II, III, VII, VIII y X, proteoglicanos, MP-2, MMP-9 |
| MMP-8 Colagenasa de neutrófilos | Proteoglicanos,ColágenosI,II,III,V,VII,VIIIyX,gelatina, |
| MMP-13 Colagenasa-3 | Colágenos I, II, III, y IV, gelatina, proteoglicanos,PAI-2 |
| **Gelatinasas** | |
| MMP-2 Gelatinasa-A | Gelatina, colágenos I, IV, V, VII, X, XI y XIV, elastina |
| MMP-9 Gelatinasa-B | Gelatina, colágenos IV, V, VII y X, elastina |
| **Estromelisinas** | |
| MMP-3 Estromelisina-1 | Colágenos III, IV, IX y X, gelatina, MMP-1, MMP-7, MMP-8,MMP-9 |
| MMP-10 Estromelisina-2 | Colágenos III, IV y V, gelatina, caseína, MMP-1 y MMP-8 |
| MMP-11 Estromelisina-3 | Desconocido |
| MMP de membrana | |
| MMP-14 MT-MMP-1 | Colágenos I, II y III, gelatina, MMP-2 y MMP-13 |
| MMP-15 MT-MMP-2 MMP-2, | gelatina |
| MMP-16 MT-MMP-3 MMP-2 | |
| MMP-17 MT-MMP-4 | Desconocido |
| **Matrilisinas** | |
| MMP-7 Matrilisina-1 | Colágenos IV y X, gelatina, fibronectina, laminina |
| MMP-26 Matrilisina-2 | Colágeno IV, fibronectina, fibrinógeno, gelatina |
| **Metaloelastasas** | |
| MMP-12 y MMP-19 | |
| Metaloelastasa de los macrófagos | Elastina, colágeno IV, gelatina, fibronectina |

**Tabla 1**. **Clasificación y propiedades de las metaloproteinasas de matriz (MMP) según Bohórrquez-Sierra,J. C.,2006.**

**Funciones de las metaloproteinasas y enfermedades involucradas**.

Las MMPs intervienen en la mayoría de los procesos fisiológicos que requieren la remodelación de la Matriz Extracelular (MEC). Tienen un papel bien definido en una amplia variedad de procesos biológicos como en el desarrollo embrionario, ovulación, morfogénesis, angiogénesis y cicatrización de heridas (Kontogiorgis *et al*., 2005). Muchas de ellas se expresan en niveles elevados en el hueso y cartílago de los mamíferos en general cumpliendo funciones en la osificación endocondral durante el desarrollo embrionario y en los procesos de modelado y remodelado óseo en la vida postnatal (Unger *et al*.,2008 ). Además de esta función reparadora y de remodelación la presencia MMP en concentraciones elevadas se ha asociado a la destrucción tisular en

una amplia variedad de procesos patológicos como: artritis, formación de aneurismas aórticos y placas ateroescleróticas, enfermedades peridontales, juegan un papel esencial en la resolución de la fibrosis hepática una vez que ha desaparecido el agente causante. El remodelado que se observa en la matriz extracelular de los pulmones de pacientes con Fibrosis Pulmonar Idiopática es, al menos en parte, debido a un desequilibrio entre algunos componentes de la familia de las metaloproteinasas de la matriz, como la colagenasa 1 (metaloproteinasa 1) o las gelatinasas A y B (metaloproteinasas 2 y 9, respectivamente) e inhibidores tisulares de metaloproteinasas (Ancochea *etal*.,2004).

En el sistema nervioso, al degradar las proteínas de matriz extracelular en la membrana basal incrementando la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE) participando en la ruptura, inflamación y en la remodelación vascular después del daño. En pacientes con esclerosis múltiple, provocan daño a la BHE, promueven la inflamación en el Sistema Nervioso Central y neurotoxicidad directa, ya que participan junto con otros factores como citocinas y radicales libres, en el ataque a la mielina. Resultados obtenidos por Fernández y colaboradores en 2007 apoyaron la participación de la MMP-9 en los mecanismos inmunopatológicos en la Esclerosis Múltiple (Fernández et al.,2007).

Las MMPs median en la degradación de la matriz extracelular y en la membrana basal durante los estadios primarios del origen del tumor, contribuyendo a la formación de un microambiente que promueve el crecimiento tumoral. También son activas en los estadios tardíos del desarrollo del cáncer donde promueven la metástasis, así como otros aspectos del crecimiento tumoral. Promueven la iniciación y el crecimiento del tumor primario y del foco metastático mediante la activación de factores de crecimiento o mediante la degradación de la membrana basal permitiendo el acceso de las células tumorales al torrente sanguíneo y linfático. Dichos factores de crecimiento inducen directamente la proliferación de la célula tumoral. Las MMPs también activan la formación de moléculas de adhesión en las células mediante la ruptura del FAS Ligando (proteína de membrana de tipo II) proapoptótico. La MMP-7 (matrilisina) permite a la célula tumoral comenzar a ser resistente a las señales apoptóticas. Las MMPs también promueven la angiogénesis tumoral al movilizar o activar factores proangiogénicos tales como el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) o el factor de crecimiento transformante (TGF- ) (Borges et al.,2006).

## Estructura de las MMPs

La estructura primaria de muchas de las MMPs humanas ha sido determinada, demostrando que todas están dotadas de dominios estructurales similares. La estructura básica de las MMP reportadas en la literatura tiene regiones o dominios característicos:

- Un péptido señal que dirige la secreción al exterior en la célula.
- Dominio N terminal o propéptido (prodominio), que mantiene a la enzima inactiva hasta que sufre un corte proteolítico

- Dominio catalítico que incluye una región conservada HEXXHXXGXXH de unión a $Zn^{2+}$,
- Región bisagra
- Dominio carboxi(C)-terminal, (**Figura 1**).

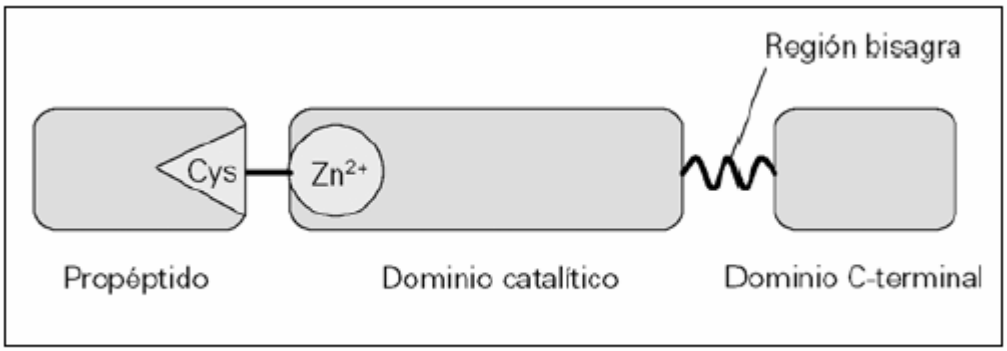


**Figura**. Estructura de las metaloproteinasas de matriz. Cys: cisteína; $Zn^{2+}$: ión zinc.

Sobre la base de esta estructura aparecen diversas variantes, como:

- un dominio de tipo hemopexina que media en el reconocimiento macromolecular (la especificidad del sustrato) y las interacciones con los TIMPS,
- un dominio de transmembrana en el caso de las MMP asociadas a la membrana plasmática que ancla la estructura a la superficie celular.

Todas las MMPs son sintetizadas con un péptido señal de 20 residuos de aminoácidos y son secretadas como pro forma latente , esas proproteinasas contienen 80 residuos en un pro dominio N Terminal seguido por 170 residuos de aminoácidos en el dominio los cuales esta conectada covalentemente por 10 a 70 residuos a un dominio tipo hemopexina de 195 residuos en el C terminal.
En las MMP de membrana la cadena polipeptídica posee una extensión adicional de 75 a 100 residuos que presumiblemente forma la hélice transmembranal y un pequeño dominio citoplasmático.(**Figura 2**)

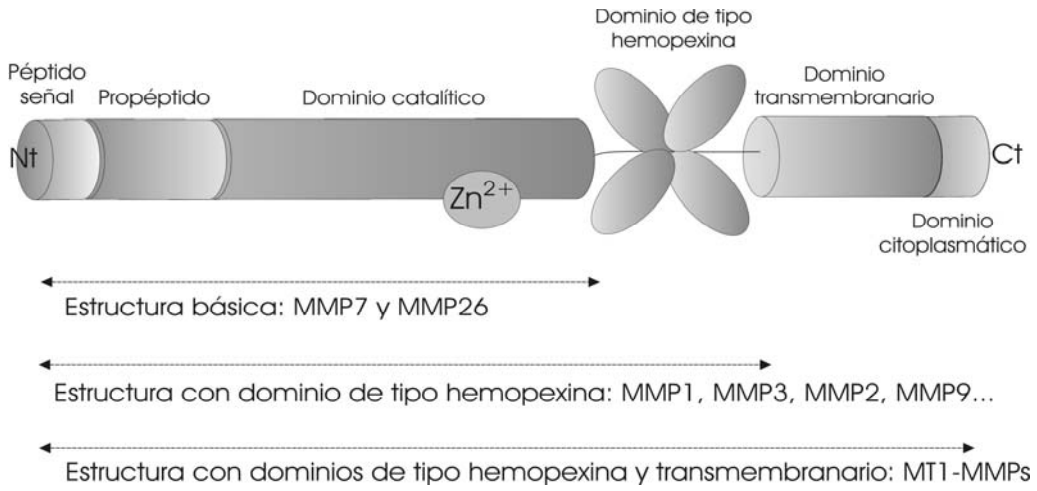


**Figura 2. Variantes en la estructura básica de las metaloproteinasas**

**Estructura del dominio catalítico.**

El dominio catalítico se halla dentro de una unidad globular de aproximadamente 35 Å de diámetro. Posee una topología caracterizada por una hoja plegada beta con 5 torsiones, conteniendo a 4 hebras antiparalelas y una hebra paralela y 3 largas alfa hélices. Además contiene 2 iones Zn tetraedralmente cooordinados: un $Zn^{2+}$ estructural y una $Zn^{2+}$ catalítico. Existe una secuencia motif conservada en el sitio activo HEXXHXXGXXH que coordina el ion Zn catalítico a través de las cadenas laterales de 3 residuos de histidina y además contiene el acido glutámico que facilita el proceso de catálisis. (Figura 3).

El dominio catalítico también contiene 1-3 iones $Ca^{2+}$ y recientes estudios han revelado que existen al menos 4 secuencias motifs diferentes de unión al Zn estructural pero la secuencia que une iones calcio esta estrictamente conservada. Se ha determinado que metales de transición tales como : Co2+, Mn2+, Cd2+ y Ni2+ pueden remplazar el ion Zn catalítico del sitio activo . Con la sustitución de estos metales se altera la geometría del sitio catalítico y por ende afecta la unión al sustrato y la enzima retiene su actividad proteolítica.

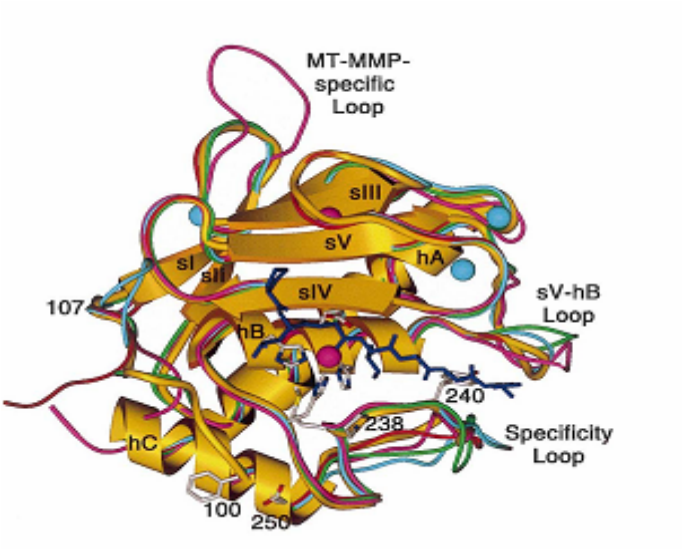


**Figura 3.** Estructura del dominio catalítico

**Mecanismo de acción de las MMPs**

Algunos estudios han determinado el mecanismo de acción por proteolisis de las MMPs (Kontogiorgis *et al*.,2005) donde se ha propuesto que el carbonil amida escindible, coordina al ion Zn del sitio activo, ya que el carbonilo es atacado por una molécula de agua garantizando el hidrógeno a un acido glutámico conservado (Glu-198 in MMP-8) y este coordina el ion Zn. Durante este proceso la carga positiva del ion Zn ayuda a estabilizar la carga del carbono de la amida escindible y una alanina conservada (Ala-161 in MMP-8) ayuda a estabilizar la carga positiva del nitrógeno de la amida escindible. En la figura 4 se observa el mecanismo de acción por proteólisis para las MMPs.

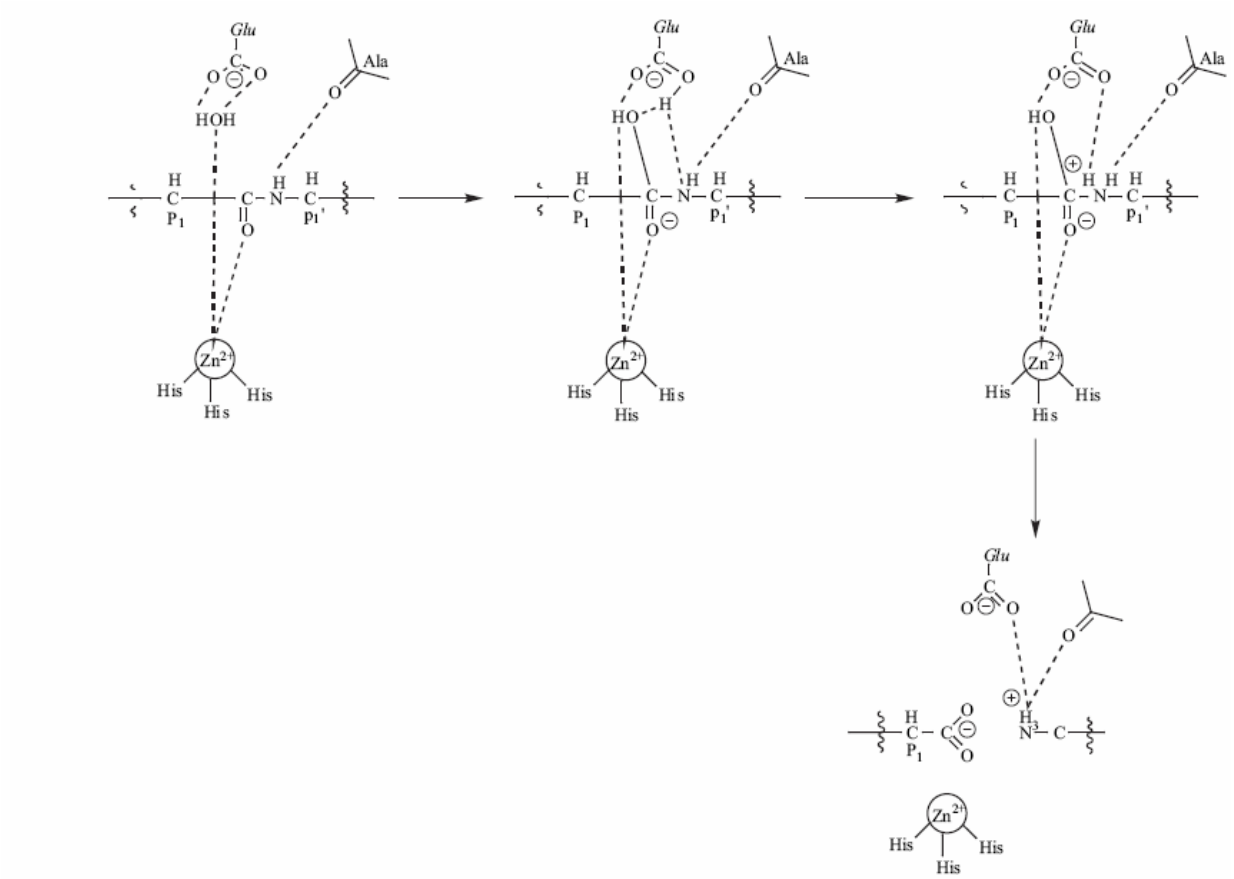


**Figura 4.** Mecanismo de acción por proteólisis para las MMPs

Una serie de estudios comparativos entre complejos inhibidores de MMPs han revelado las diferencias en los sitios activos de las MMPs estudiadas. En la **Tabla 2** se muestran los residuos de aminoácidos variables en los sitios activos de las MMPs.

| Residue No | MMP-1 | MMP-2 | MMP-3 | MMP-7 | MMP-8 | MMP-9 | MMP-10 | MMP-11 | MMP-12 | MMP-13 | MMP-14 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 151 | Ser | Tyr | Tyr | Tyr | Ser | Tyr | Tyr | Leu | His | Tyr | Thr |
| 157 | Gly | Asp | Gly | Gly | Asn | Asp | Gly | Gly | Gly | Ser | Gly |
| 158 | Gly | Gly | Asn | Asn | Gly | Gly | His | Gly | Gly | Gly | Gly |
| 159 | Asn | Leu | Val | Thr | Ile | Leu | Ser | Ile | Ile | Leu | Phe |
| 165 | Glh | Ala | Ala | Ala | Gln | Pro | Pro | Phe | Gly | Pro | Phe |
| 188 | Glu | Gly | Gly | Gly | Asn | Gly | Gly | Gly | Gly | Gly | Gly |
| 189 | Tyr | Tyr | Thr | Lle | Tyr | Tyr | Thr | Thr | Thgr | Tyr | Asn |
| 193 | Arg | Leu | Leu | Tyr | Leu | Leu | Leu | Gln | Leu | Leu | Leu |
| 104 | Val | Val | Val | Ala | Val | Val | Val | Val | Thr | Val | Val |
| 218 | Ser | Ile | Leu | Thr | Assn | Met | Leu | Phe | Thr | Ile | Phe |
| 220 | Thr | Thr | His | Gly | Ala | Arg | Asn | Thr | Lys | Thr | Gln |
| 222 | Ser | The | Leu | Gly | Arg | Thr | Phe | Arg | Val | Thr | Met |

**Tabla 2.**Residuos de aminoácidos variables en el sitio activo de las MMP estudiadas.

El sitio activo esta formado por 2 regiones distintas : un surco en la superficie de la proteína centrado en el Zn catalítico y un sitio de especificidad (S1) que varia considerablemente entre los miembros de la familia .

Se ha demostrado que existe una interacción significativa entre los residuos de aminoácidos del sitio S1 de la MMP y su sustrato o inhibidor. Por lo que el subsitio S1 aparentemente juega un papel significativo en determinar la especificidad del sustrato en la enzima activa ya que existe una variación entre los residuos de aminoácidos que forman el sitio S1 en los diferentes MMPs estudiadas y esto influye en el grado de selectividad frente al sustrato entre las enzimas. En la **Tabla 3** se muestran los residuos de aminoácidos presentes en el bolsillo S1 de las MMPs

El volumen de este subsitio varia ampliamente desde pequeño sitio hidrofóbico en MMP7 y MMP1 comparado con un gran sitio en MMP-8.El bolsillo S1 para la mayoría de las enzimas es muy profundo y en el caso de MMP 1 , 7 y 11 esta ocluido parcial o completamente por la presencia de residuos de aminoácidos arginina ,tirosina y glutamina.

| MMPs | aa 1 | aa 2 | aa3 |
|---|---|---|---|
| MMP-1 | His-183 | Phe-185 | Ser-172 |
| MMP-8 | His-162 | Phe-164 | Ser-151 |
| MMP-2 | His-166 | Phe-168 | Tyr-155 |
| MMP-9 | His-183 | Phe-185 | Tyr-172 |
| MMP-13 | His-187 | Phe-189 | Tyr-176 |
| MMP-3 | His-166 | Tyr-168 | Tyr-155 |

**Tabla 3.**Residuos de aminoácidos presentes en el bolsillo s1 de las MMPs.

**Inhibidores Tisulares de las Metaloproteinasas.**

Los inhibidores naturales específicos de las MMP son los TIMP, que son glicoproteínas de bajo peso molecular capaces de unirse de forma irreversible a las formas proenzimáticas o enzimáticas activas de las MMPs .Se unen a ellas de forma irreversible en una razón molar de 1:1, por lo que el nivel neto de actividad proteolítica dependerá de las concentraciones relativas de MMP activas y sus inhibidores.

Hasta el momento se han identificado cuatro inhibidores en mamíferos: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 y TIMP-4. A pesar de tener cierta similitud estructural entre ellos, existen diferencias entre la especificidad de los diversos TIMP. Así, TIMP-1 resulta particularmente importante en la regulación de la actividad de MMP-9, y TIMP-2 para el control de la actividad de MMP-2 [7]. TIMP-3, a diferencia de TIMP-1 y TIMP-2 ( Bohórrquez-Sierra,J.C.,2006).

**Inhibidores Terapéuticos.**

Los inhibidores MMPs han sido considerados como potenciales terapéuticos debido a su efecto regulatorio en la homeostasis de estas proteasas involucradas en procesos patológicos. . Las primeras aplicaciones terapéuticas de las MMPs incluyeron a los TIMPs, los cuales mostraron su capacidad de inhibir el crecimiento tumoral en modelos murinos transgénicos ( Jiang *e tal.,*2002 ). Sin embargo, las posibilidades de la utilización de los TIMPs en la terapia frente al cáncer están limitadas, debido a que la administración de estos compuestos tienen una baja farmacocinética . Además de estas dificultades, se ha observado que estas proteínas multifuncionales favorecen el crecimiento de las células tumorales frente a la inhibición de la actividad de las MMPs (Borges *et al*.,2006).

Un diverso número de reportes han mostrado que la interacción al ion Zn del sitio activo juega un papel fundamental en definir el modo de unión y la potencia relativa del inhibidor. Se han determinado los requerimientos para que una molécula actué como un efectivo inhibidor de las enzimas MMP son:

a) Un grupo capaz de quilatar el ion Zn del sitio activo. Ej: acido carboxílico, acido hidroxamico y sulfidrilos.
b) Al menos un grupo funcional el cual asegura una interacción a de tipo puente de hidrogeno al esqueleto de la enzima.
c) Uno o mas cadenas laterales que experimentan interacciones de tipo Van der Waals efectivas con subsidios de la enzima.

Estos requerimientos pueden ser satisfechos por una variedad de inhibidores de las MMPs, los cuales han sido descubiertos por un numero de métodos basados en diseños estructurales (Kontogiorgis *et al*.,2005).

Muchos grupos de compuestos se han empleado tal es el caso de agentes quelatantes que interactúan con el ion Zn del sitio activo (EDTA, 1,10-phenanthroline ) pero muestran baja o ninguna selectividad y por ende bajo potencial terapéutico.
( Birkendal-Hansen *et* al 1993). En los últimos años se han identificado un amplio espectro de estructuras peptídicas y no peptídicas que muestran afinidad por ligandos que contienen zinc los cuales se han aplicado en tratamientos clínicos. La selectividad respectiva de los inhibidores ha sido empleada para explorar las diferencias en los sitios activos de las MMPs. En la actualidad se ha incrementado el número de inhibidores caracterizados por cristalografia de rayos X, por lo que esta información estructural se ha convertido en importante herramienta en el diseño de inhibidores potencialmente selectivos (Fisher,*et a*l 2006). El empleo de métodos de diseño, asistido por computadoras, pueden extraer las características estructurales y de unión de los sitios activos de las MMPs y por consiguiente minimizar efectos secundarios relacionados con la selectividad de los inhibidores para dichas enzimas. La dinámica molecular y técnicas de anclaje (docking-type), han ayudado a explorar las diferencias entre los miembros de la familia de las MMPs así como las interacciones con sus inhibidores.
Sin embargo, estudios cuantitativos de la relación estructura-actividad (QSAR en inglés) son aplicados exitosamente para modelar la actividad de los inhibidores de las MMPs (Kontogiorgis *et al*.,2005).. En estudios recientes se aplicó algoritmo genético lineal y no lineal para la selección de las variables en metodos QSAR. Este procedimiento utiliza

información topológica 2D, la cual fue codificada a partir de información estructural de un grupo de derivados N-hydroxy-2-[(phenylsulfonyl)amino]acetamide (HPSAAs) y la información relevante que relaciona las características topológicas de esos compuestos y sus actividades inhibitorias contra algunos miembros de la familia de las MMPs. Ambos métodos QSARs con ligando clásico, fueron desarrollados para derivar modelos individuales para cada miembro de dicha familia (Fernández *et al*.,2006) y(Fernández *et al*.,2007).

La aplicación de los métodos QSARs ha permitido determinar el mecanismo de interacción química-biológica de los inhibidores y estas enzimas. VERMA Rajeshwar y col 2007 han explorado en el conocimiento de las interacciones de inhibidores selectivos contra MMP-1,2,3,7,8,9,12,13 y 14 a través de un total de 92 modelos QSAR, revelando factores imprescindibles como la hidrofobicidad y la refractividad molar.

**Conclusiones**

Los recientes avances en el conocimiento estructural y funcional de las MMPs, en los mecanismos de activación y regulación, la especificidad de sustratos y la inhibición por los inhibidores tisulares de la metaloproteinasas, han permitido el diseño de nuevas estrategias terapéuticas contra un gran número de enfermedades en que están implicadas. A pesar de que el estudio de la interacción proteína-inhibidor involucra parámetros farmacocinéticos, expresión genética diferencial y aspectos del ambiente que rodea la proteína. Los métodos bioinformáticas son herramientas de diseño molecular con adecuada exactitud y nivel predictivo con respecto a la inhibición de las MMPs, que conlleva a optimización y disminuyen efectos secundarios indeseables relacionados con la selectividad de los inhibidores MMPs. Permiten modelar con mas exactitud al inhibidor y su interacción con la MMPs y en el futuro sintetizar fármacos lo mas específicos posibles que actúen contra la célula tumoral y no sea alterado el proceso fisiológico de las células normales que rodean el tumor , problema muy común en las drogas empleadas en el tratamiento de los diferentes tipos de cáncer.

## Bibliografía.


- Freije, JMP, Diez-Itza I, Balbín M et al.. Molecular Cloning and Expression of Collagenase-3, a Novel Human Matrix Metalloproteinase Produced by BreastCarcinomas. J Biol Chem. 1994; 269: 16766-16773.
- Barcenas,C.; Cano, L.;Cook,A.; Restrepo, A.;Martinez, A.,2004, Expresion de metaloproteinasas y sus inhibidores de tejido en un modelo murino de fibrosis pulmonar.MedUNAB,7(19),pp.9-14.
- Bode,W.; Fernandez-Catalan, C.; Tschesche, H.;Grams, F.; Nagase, H.; Maskos, K., 1999,"Structural properties of matriz metalloproteinases"CMLS*, Cell.Mol. Life Sci*. 55, pp. 639-652.

- Unger,M.,Chiappe,M.A.,2008 .Importancia fisiológica de los microminerales en el metabolismo óseo.[on-line] REDVET , (Argentina),disponible en http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101008.html
- Kontogiorgis,C.A.,Papaioannou,P.,Hadjipavlou-Litina,D.J.,2005."Matriz Metalloprteinase Inhibitors: A review on pharmacophore mapping and (Q)Sars results".*Currents medical Chemistry*,12,pp.339-355.
- Fernandez,R.A.,Fernández, L.,Lara R.F., Cabrera,J.A.,Suárez,I.,León, M.,González, L., González-Quevedo Monteagudo,A.2007."Metaloproteinasas de la matriz en pacientes con esclerosis multiple".Medisur,5 http://www.medisur.cfg.sld.cu.
- Ancochea,J., Anton,E.,Casanova, A.,2004."Nuevas estrategias terapéuticas en la fibrosis pulmonar idiopática".*Arch Bronconeumol*,40(6),pp.16-22.
- Borges,V.M.,quintana,J.,Melguinzo,L.M.,2006" Las Metaloproteinasas de la Matriz Extracelular y su función en diferentes tipos de Cancer.(España). Biocancer3.
- Bohórrquez-Sierra,J.C.,2006 "Metaloproteinasas de la matriz: su implicación en las enfermedades vasculares periféricas".*Angiologia*, 58(4),pp.269-277.
- Jiang Y, Goldberg ID, Shi YE.2002. " Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. *Oncogene".* 2,1pp. 2245-2252
- Birkendal-Hansen,H.,Moore,W.G.I.,Bodden,M.K., Windsor, L.J.,Birkendal-Hansen,B.,DeCarlo,a.,Engler,J.A.,1993"Matrix Metalloproteinases:A *Review*".*CriticalReview in Oral Biology and Medicin*,4(2),pp.197-250.
- Fisher,J.F.,Mobashery,s., 2006. "Recent advances in MMP inhibitor design".*Cancer Metastasis Rev*.DOI 10.1007/s10555-006-7894-9, 25,pp.115–136 .
- Fernández, M.; Caballero, J.; Tundidor-Camba, A., 2006" Linear and nonlinear QSAR study of N-hydroxy-2-(phenylsulfonyl)amino acetamide derivatives as matrix metalloproteinase inhibitor". *Bioorg. Med. Chem*, *14*, 4137.
- Fernández, M.; Caballero, J. 2007" Assessment of the main molecular features of N-hydroxy-α-phenylsulfonylacetamide derivatives which determine their selectivity in the inhibition of matrix metalloproteinases". *Bioorg. Med. Chem.*, *15*, 6298.
- VERMA Rajeshwar P.,HANSCH C.,2007, "Matrix metalloproteinases (MMPs) : Chemical-biological functions and (Q)SARs",Bioorganic & medicinal chemistry.15(6),pp.2223-2268.