

# Матриксные металлопротеиназы

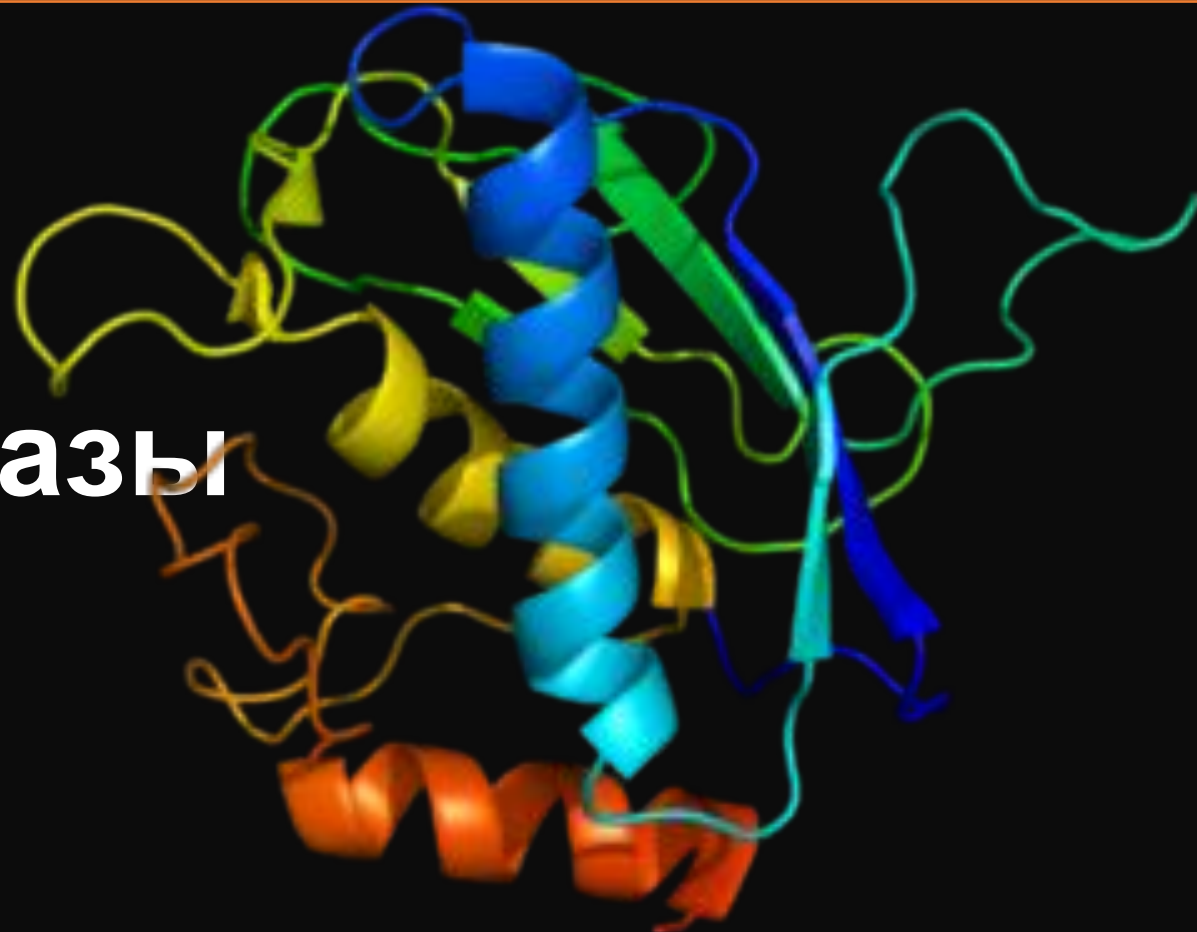
Выполнили студенты

РУДН— МИ— СТОМАТОЛОГИЯ:

Идиятуллина Айсылу.1032200355 МС 209

Рахим Омар 1032205284 МС 209

Сяо Ялань 1032209103 мс209



- Матриксные металлопротеиназы (ММПs) представляют собой семейство Zn- и Ca-зависимых Эндопептидаз, которые после активации разрушают компоненты внеклеточного матрикса.

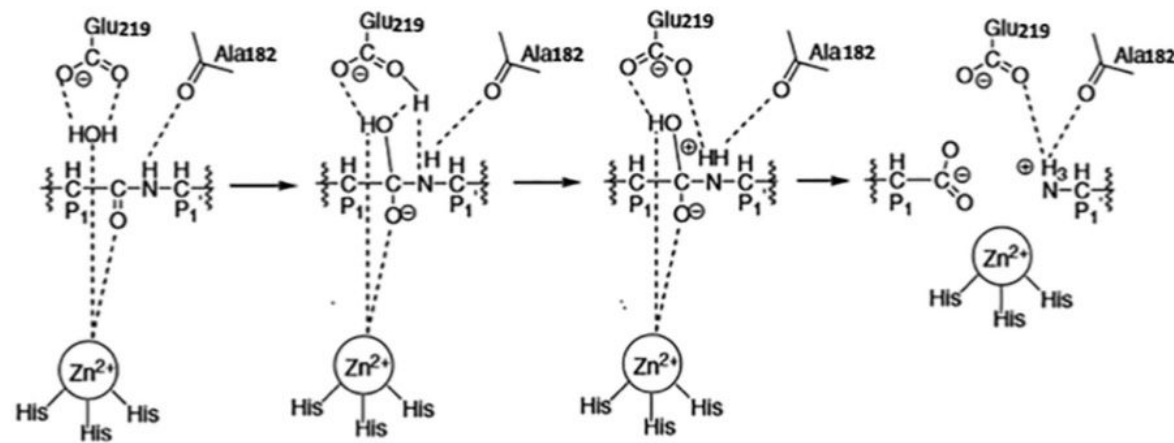


Рис. 1. Схематическое изображение механизма гидролиза пептидной связи в присутствии иона цинка  $Zn^{2+}$  ММП. Ион цинк, входящий в активный центр ММП, координирован тремя остатками гистидина (His). Частично обозначены аминокислоты Glu219 и Ala182, которые участвуют в процессе гидролиза [3].

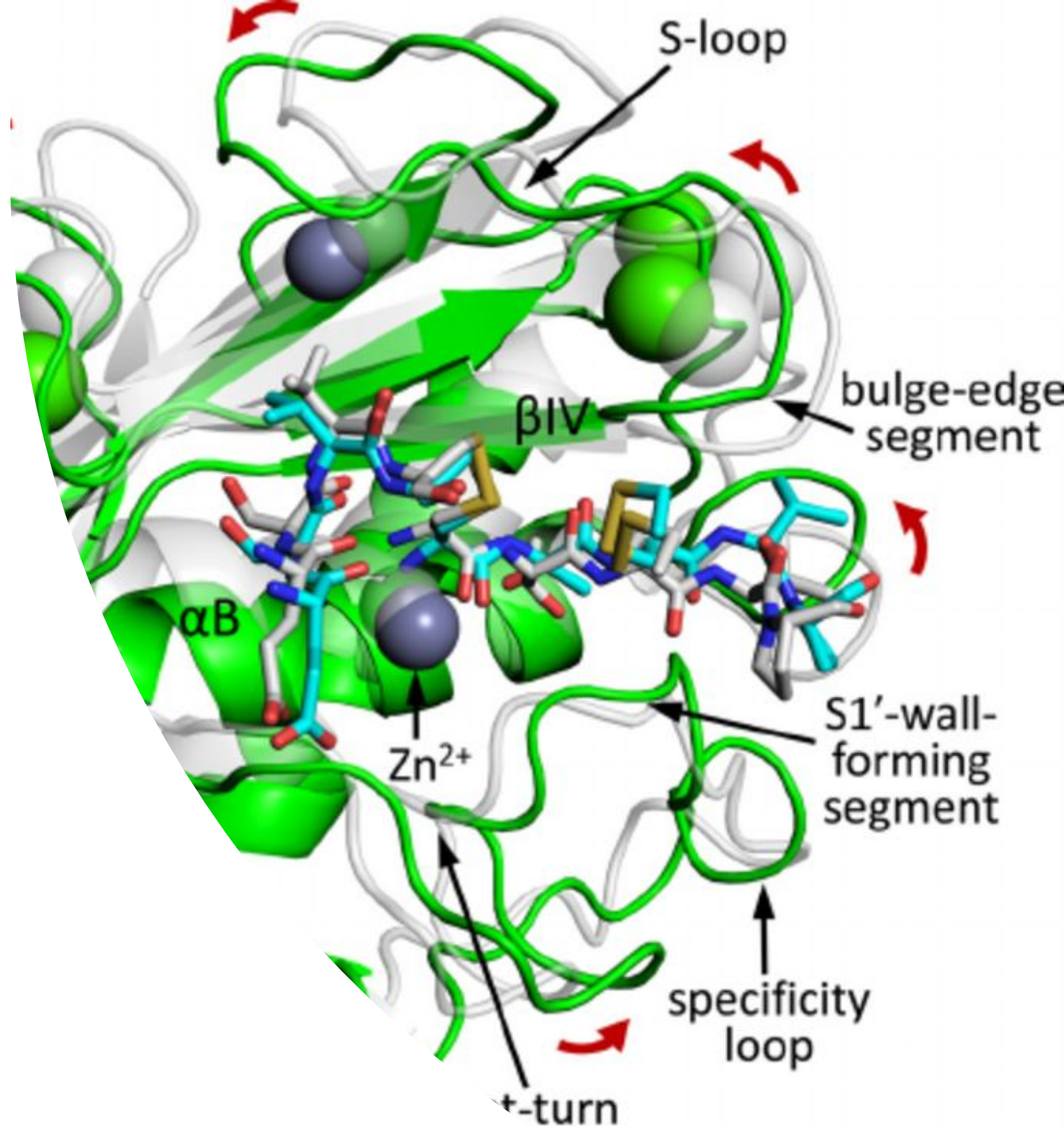
- Семейство цинксодержащих металлопротеиназ

---

- в большинстве своём состоит из матриксных металлопротеиназ (ММП). ММП относятся к семейству цинк-зависимых эндопептидаз, способных разрушать все типы белков внеклеточного матрикса (ВКМ).
- Своё название они получили из-за способности специфически гидролизовать белки ВКМ.
- Они принимают участие в обмене белков соединительной ткани, в процессах нормального развития и ремоделирования клеточного матрикса, эмбриогенезе, репарации тканей, неоангиогенезе, а также в процессах опухолевой трансформации и метастазирования.
- Активно изучается роль ММП при ревматоидных артритах, остеоартритах, эндометриозе, аневризмах аорты, периодонтитах, аутоиммунных поражениях кожи, атероматозе и язвообразовании

# История открытия семейства ММП

- Одно из самых ранних описаний ММП датируется 1949 г. В нем были описаны деполимеризующие ферменты, которые, как было предположено, могли способствовать росту опухоли, делая строму соединительной ткани, а также мелкие кровеносные сосуды более рыхлыми. 13 лет спустя, в 1962 году, Gross J и Lapierre C [6] впервые обнаружили коллагеназу во время изучения деградации тройного спирального коллагена при метаморфозе хвоста головастика. Коллаген расщепляли с помощью фермента, известного как промежуточная коллагеназа. В 1968 г. этот фермент в неактивной форме, называемой про-ММП (также называемый зимогеном ММП), был выделен из хвоста головастика и человеческой кожи. Позже он был найден у позвоночных, насекомых (*Drosophila melanogaster*), нематод (*Caenorhabditis elegans*), гидр (*Hydra vulgaris*) и растений (*Arabidopsis*) [6]. Позднее были обнаружены и охарактеризованы другие ММП. Однако, как оказалось, многие вновь открытые ферменты были уже известны ранее или были найдены одновременно не связанными друг с другом группами учёных. Это приводило к тому, что одни и те же члены семейства ММП называли разными именами. В связи с этим, в 1989 году, Harris Ed Jr и его коллегами во время конференции «Destin Beach Matrix Metalloproteinase» было предложено использовать название «матриксная металлопротеиназа» или «матрик-сина» для этого семейства ферментов. (Первая обзорная статья, где впервые упомянуто название «матриксные металлопротеиназы», была написана Birkedal-Hansen H и опубликована в 1988 г.). Впоследствии, Международный союз биохимии и молекулярной биологии присвоил семейству название – «Matrix Metalloproteinases» и назначил каждому члену свой ферментный номер. К 1991 г. были названы и охарактеризованы ММП-1, -2, -3, -7, -8, -9 и -10, а также тканевые эндогенные ингибиторы ММП 1 и 2 типа (ТИММП-1 и -2) [7]. Путём ДНК-клонирования было показано, что коллагеназы и желатиназы нейтрофилов генетически отличны от тех же самых ферментов, синтезируемых фибробластами. Нейтрофильная коллагеназа была обозначена ММП-8 а желатиназа – ММП-9.





# Строение матриксных металлопротеиназ

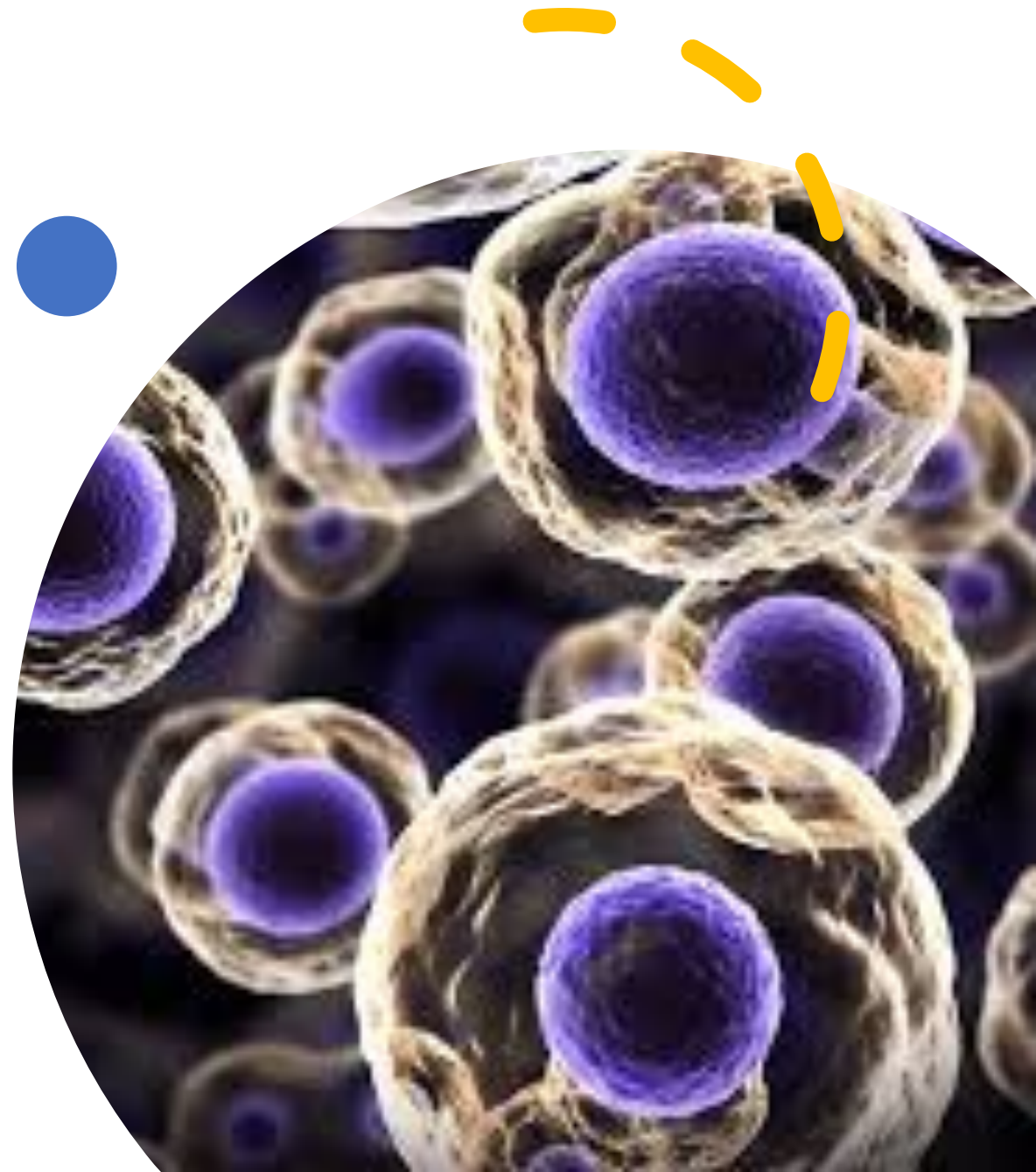
В 1994 г. с помощью рентген-кристаллографии лабораторией Longley были получены 3D структуры каталитических доменов ММП-1 и ММП-8 [9]. В 1995 г. удалось получить кристаллическую структуру у всей молекулы коллагеназы 1. В 1996–1997 гг. благодаря рентгеноструктурному анализу удалось получить 3D структуры комплексов каталитических доменов ММП-3 и ММП-8 с их ингибиторами [5]. На данный момент при помощи того же метода и ЯМР-спектроскопии помимо ММП-1 и ММП-8 были выяснены структуры ММП-2, ММП-3, ММП-7, ММП-9, ММП-10, ММП-11, ММП-12, ММП-13, ММП-14 и ММП-16. Частичны были выяснены структуры про-ММП-3 и про-ММП-9, про-ММП-1 и про-ММП-2. Комплексы про-ММП-2 совместно с ТИММП-2 каталитического домена ММП-3 с кат-ТИММП-1, ММП-14 и кат-ТИММП-2 помогли понять механизм катализа и связывания субстрата при поиске новых ингибиторов [9]. Благодаря новым методам исследования структур органических молекул оказалось возможным выяснить структуры ММП и их эндогенных ингибиторов, а также установить ряд общих особенностей. ММП состоит из следующих частей

Схематическое представление доменной структуры ММП человека  
 Примечания: Каталитический домен (CAT) с двумя ионами цинка (выделены розовым) и двумя ионами кальция (выделены жёлтым). Продомен (PRO) показан тёмно-жёлтым блокирует активный сайт. Линкерный пептид (LINKER) соединяет каталитический и гемопексиноподобный домен (HPX). Некоторые ММП показаны с расширением (FXT) на С-конце, которое не



# Продомен (PRO)

- Эта структура, которую условно можно разделить на два фрагмента: N-концевую последовательность (сигнальный домен) из 18–20 аминокислотных остатков (АКО), отщепляющихся во время активации фермента, и так называемого «пропептида», содержащего около 80 АКО. В последнем находится последовательность PRCGxPD (пролин – аргинин – цистеин – глицин – остаток любой аминокислоты – пролин – остаток любой аминокислоты).
- Эта последовательность несёт остаток цистеина, взаимодействующего с ионом  $Zn^{2+}$  в каталитическом домене. При этом образуется координационная связь и предотвращается связывание молекулы воды с ионом металла, благодаря чему фермент может существовать в неактивной форме (проММП)



# Каталитический Домен

- Каталитический домен (CAT)  
Каталитический домен (CAT) состоит примерно из 170 АКО. Включает активный Zn-связывающий сайт в котором ион металла связывают три остатка гистидина. После сайта следует стабилизирующая структура из метионина, его восемь остатков образуют «метиониновую петлю», которая поддерживает структуру активного центра вокруг каталитического иона цинка.

## Структура белка

Каркас для поддержки и позиционирования активного центра

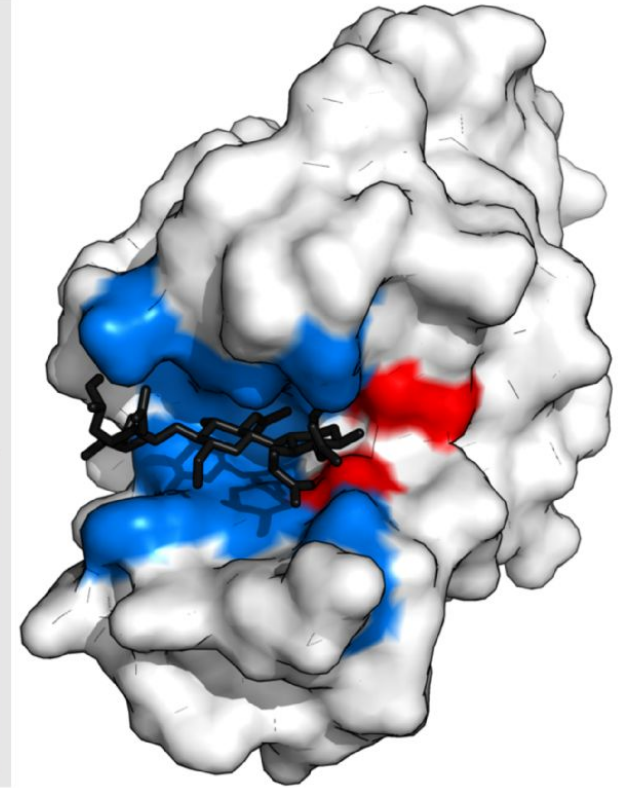
## Активный центр

### Сайт связывания

Связывает и ориентирует субстрат(ы)

### Каталитический сайт

Снижает энергию химической активации

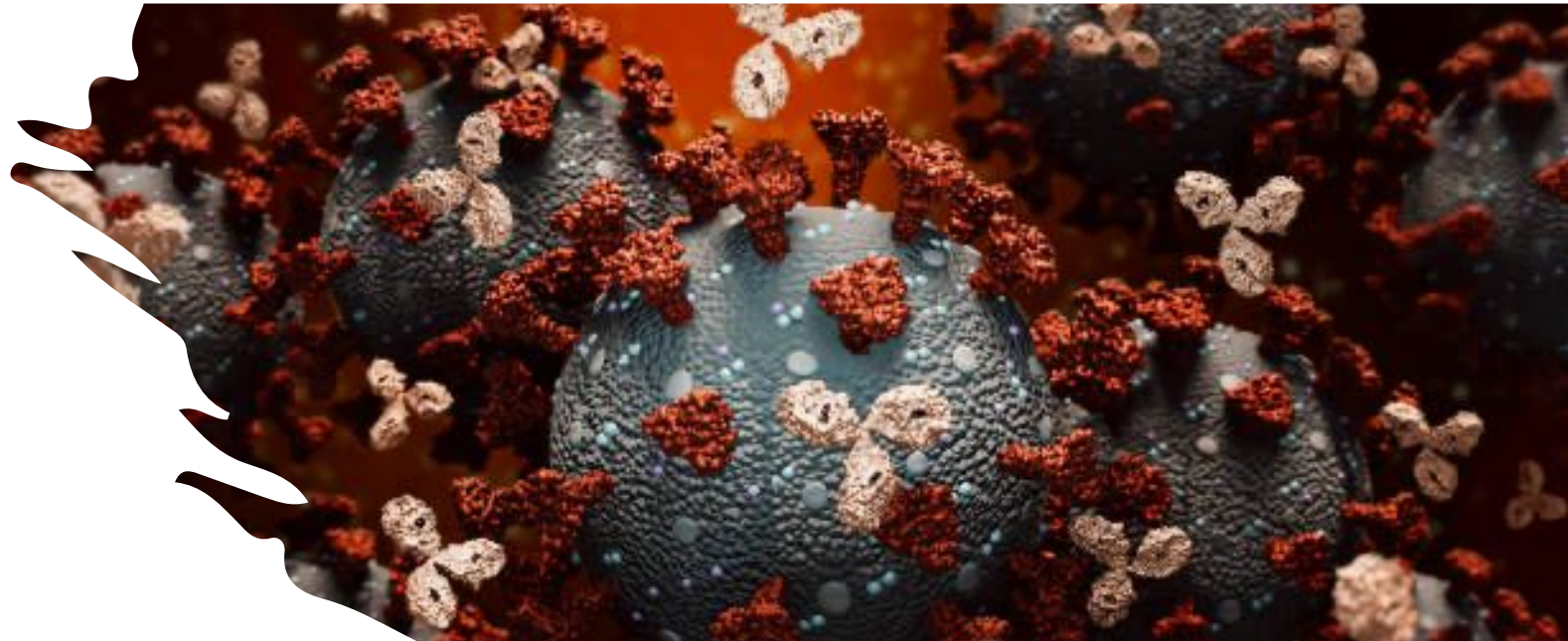
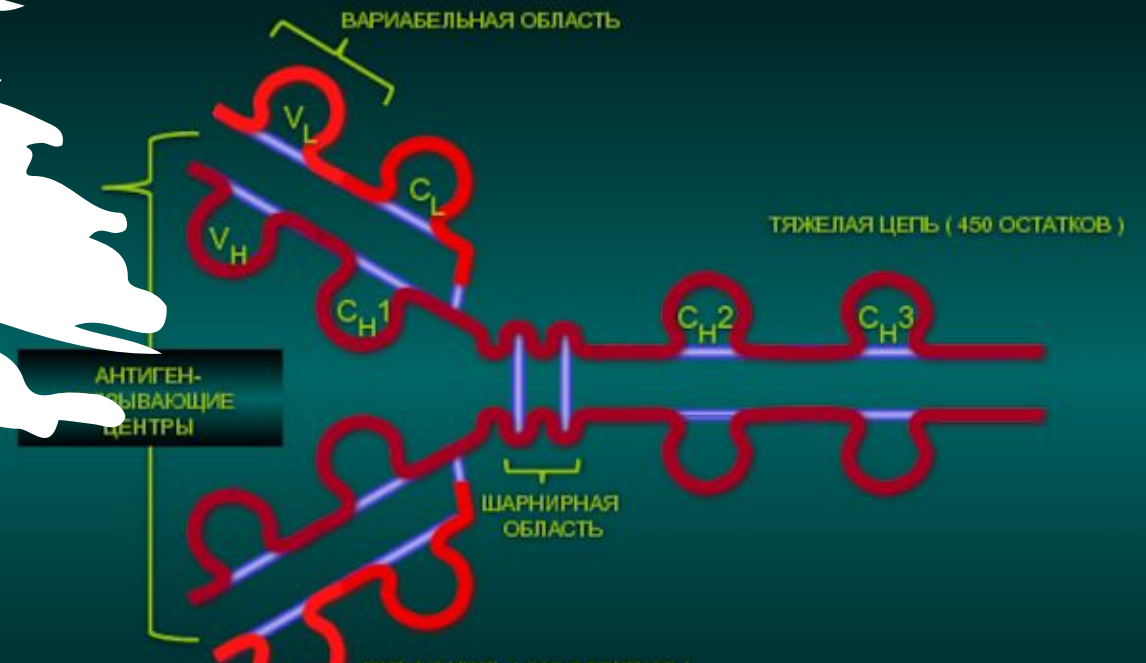




# Шарнирная область

- Шарнирная область (LINKER) Ещё часто называют линкерный пептид. Его основная задача состоит в том, чтобы соединять каталитический домен с последующим гемопексиноподобным. Она может состоять из разных АКО, расположенных в произвольном порядке

## ОБЩАЯ СХЕМА СТРОЕНИЯ IgG1





# Гемопексиноподобный домен (НРХ) (С-концевой)

---

- Гемопексиноподобный домен (НРХ) образован серией около 200 АКО. Ответственен за специфичность при взаимодействии с белком. Раскручивает спирали в молекуле коллагена, попутно определяя её положение по отношению к ферменту. Именно на гемопексиноподобном домене происходит взаимодействие с тканевыми ингибиторами ММП



pro-domain

fibronectin domains

catalytic domain

Cys99

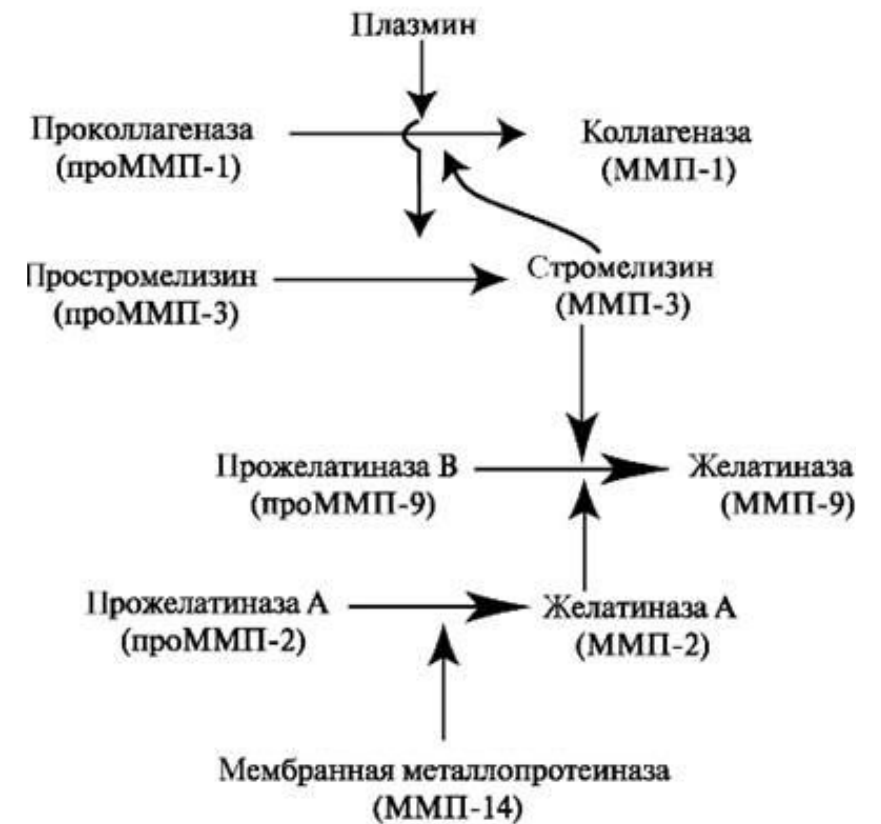
Zinc

# Классификация матриксных металлопротеиназ

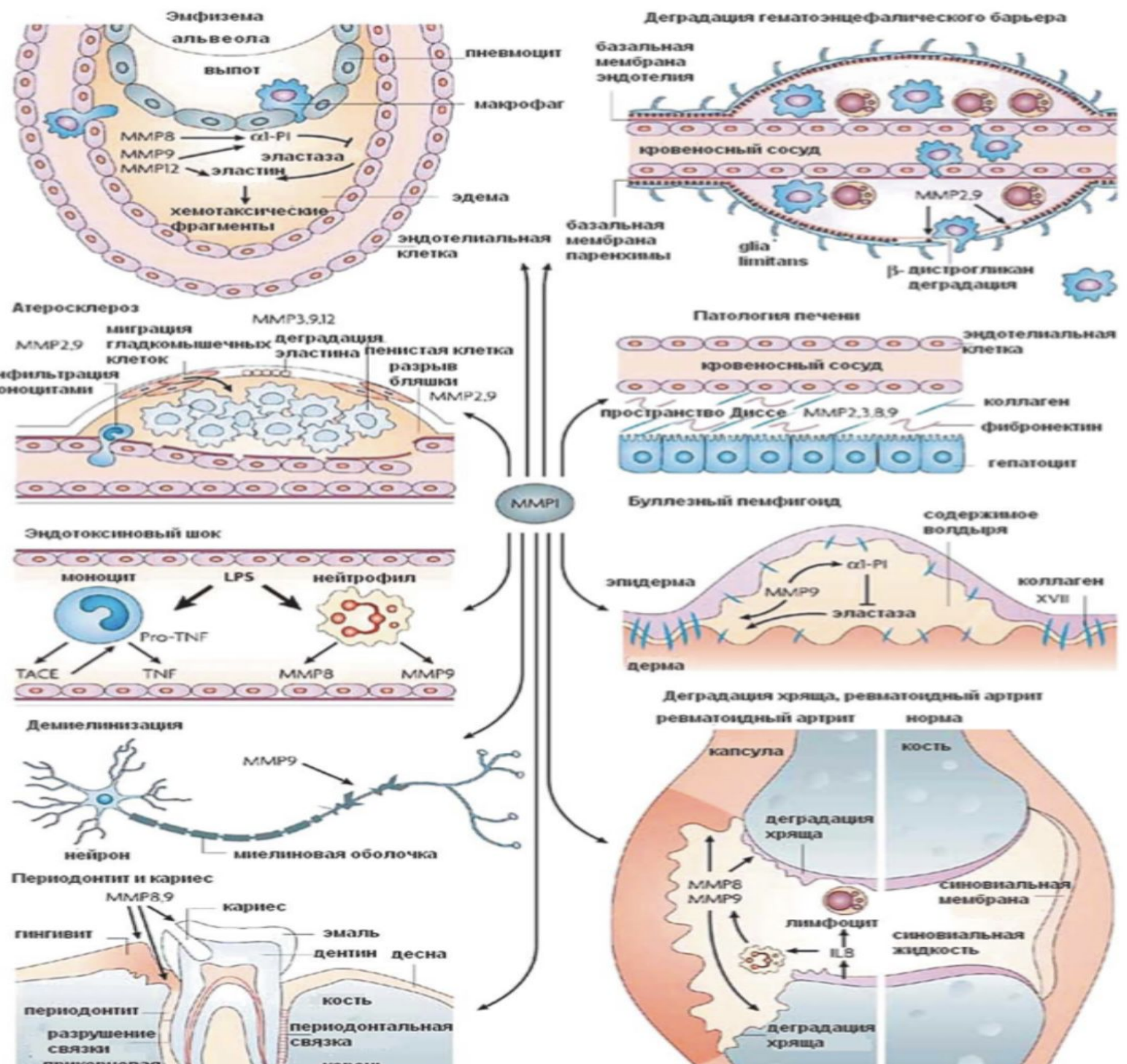
- В 80–90-х годах, когда было охарактеризовано достаточное количество ММП, возникла необходимость их классификации. Сначала ММП были классифицированы относительно их *in vitro* субстратной специфичности (внеклеточный матрикс). Однако не было понятно почему конкретные субстраты были протестированы относительно определённых ММП [3]. Для того, чтобы фермент отнесли к семейству ММП, он должен отвечать следующим требованиям: 1) протеолиз не менее одного компонента ВКМ; 2) катализ, связанный с ионом  $Zn^{2+}$  в активном центре фермента; 3) активация протеиназами или ртутьорганикой; 4) ингибируется этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА), 1,10-фенантролином и одним из тка-1 2. 2019 ФАРМАКОКИНЕТИКА и фармакодинамика новых эндогенных ингибиторов металлопротеиназ (ТИММП); 5) кДНК фермента должна быть гомологична с кДНК ММП-1. Изначально предложенная классификация, заключающаяся в том, что протеиназа секретируется в проформы, больше не применяется, в связи с открытием ММП-11 и ММП-28, которые внутриклеточно активируются фурином и секретируются в активных формах, а мембраны, связанные ММП, вообще не обязательно секретируются [13]. Активность некоторых ММП проверялась на коллагене I типа, фибронектине и ламинине. Однако далеко не все ММП проверялись на таком количестве субстратов. В итоге получилось так, что первые 10 ММП имели широкую субстратную специфичность, в то время как для ММП, открытых позднее (например, ММП-28), идентифицировано или исследовано только несколько субстратов. Такая ограниченная классификация субстратов привела к возникновению ряда ошибочных представлений и упрощений в понимании разнообразия функций ММП [13]. В результате были предложены две системы классификации матриксных металлопротеиназ. Одна из них представляет собой 5 подсемейств: коллагеназы, желатиназы, стромелизины, митрилизины и мембранносвязанные ММП (МС-ММП). Недостаточно изученные относят в группу «другие ферменты» [14]. Всего на сегодняшний день известно 28 ферментов ММП (табл. 1). Другая классификация предложена (Huxley-Jones J.) в 2007 г. [16]. В геноме он идентифицировал гены, способные кодировать ММП. На основании полученных данных он разделил ММП на шесть групп: А. Подгруппа А ММП-26 и ММП-28). В. Подгруппа В ММП-21 и ММП-23). С. Подгруппа С ММП-25). D. Подгруппа D ММП-3, ММП-8, ММП-12, ММП-13 и чьи гены в хромосоме 11q21–24). Е. Подгруппа Е ММП-15, ММП-16 и которые являются мембранного типа. F. Подгруппа F (ММП-2, ММП-9 и ММП-20

# Механизм активации ММП

- В 1990 г. было обнаружено, что «цистеиновый выключатель» отвечает за регуляцию фермента в его неактивной форме. [6]. В организме ММП синтезируются в виде проферментов (проММП), которые активируются как протеолитически, так и непротеолитически соединениями ртути ( $\text{HgCl}_2$ ; 4-аминофенилацетат ртути), хаотропными агентами и додецилсульфатом натрия [19, 20]. В основном, активность фермента регулируется благодаря наличию пропептида. Он взаимодействует с цинком в каталитическом домене, образуя координационную связь. Молекула воды, находящаяся в пропептиде, не связывается с ионом цинка, следовательно, не происходит катализа и расщепления субстрата, из-за чего фермент и остаётся в неактивной форме. Чтобы ММП активировались, необходимо отщепить пропептид от каталитического домена. Зачастую это достигается автокатализом или взаимодействием с другими ММП.



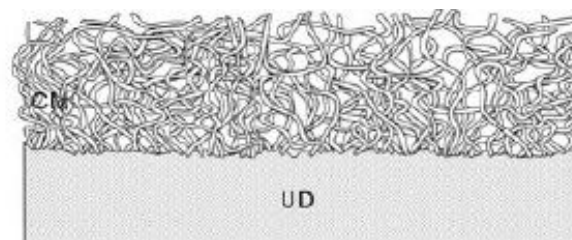




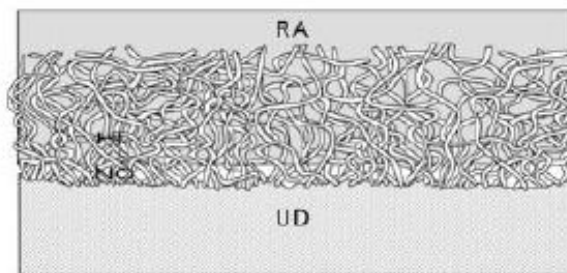
MMPs при различных заболеваниях

# ММП в СТОМАТОЛОГИИ

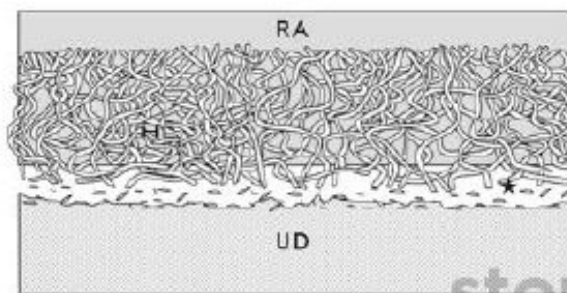
- **Матриксные металлопротеиназы (ММП)** — это семейство протеолитических ферментов, выделяемых из минерализованного матрикса дентина, они способны гидролизовать органическую матрицу деминерализованного дентина.



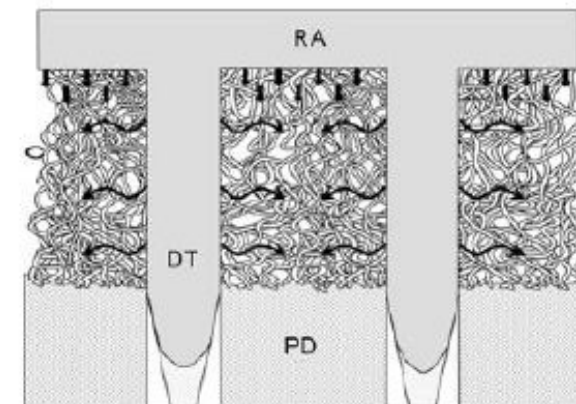
A



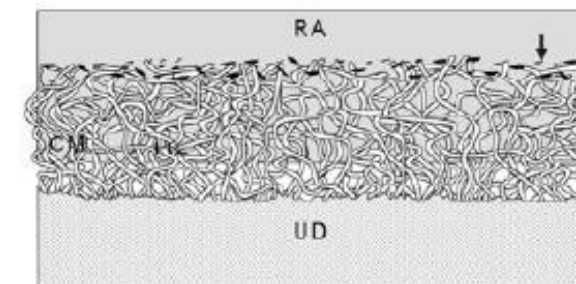
C



D



B

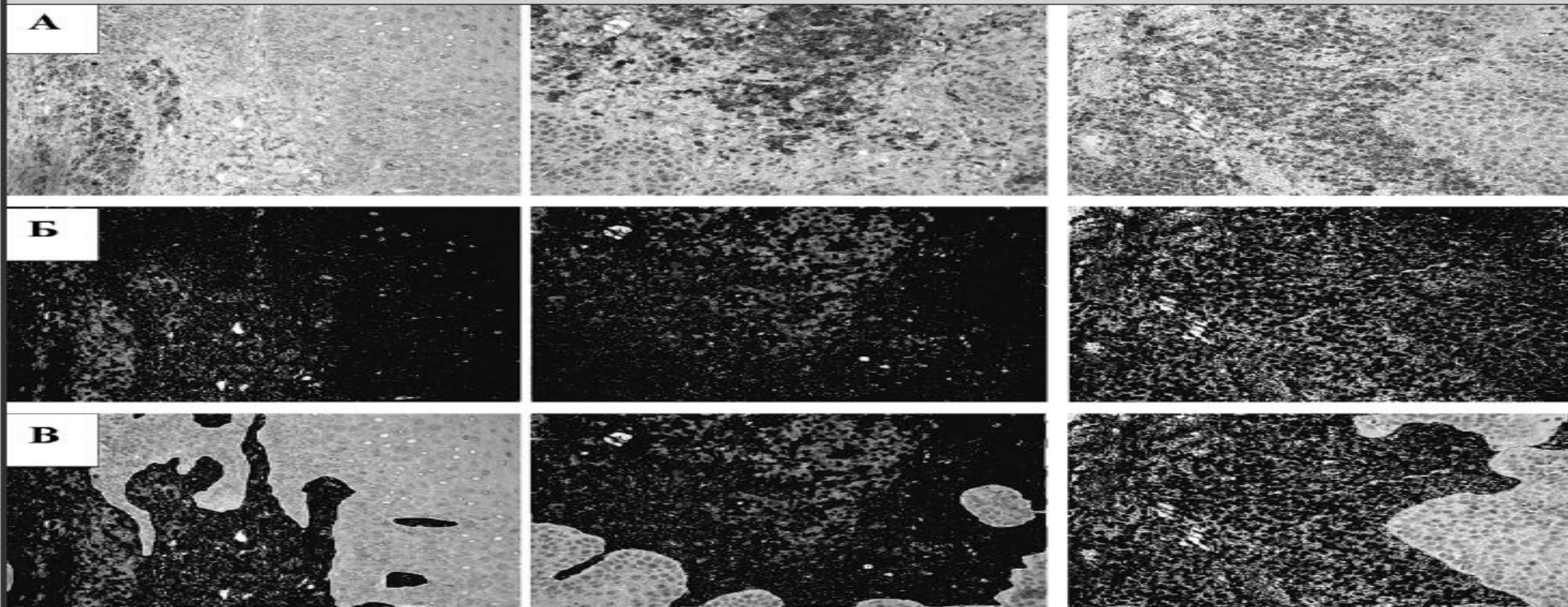


E

stom.club



**Рисунок 1** Особенности экспрессии MMP-13 в биопсийном материале десны в зависимости от нозологических форм периодонтита: А – иммуногистохимическое окрашивание с антителами к MMP-13 (x200, хромоген – DAB, контр-окрашивание гематоксилином Майера), Б–В – результат морфометрического анализа экспрессии MMP-13 с помощью программы Argeo Image Score v.9.0 поля зрения (Б) и отдельно стромального (В) компонентов ткани десны



**Быстропрогрессирующий  
периодонтит**

**Хронический простой  
периодонтит**

**Хронический сложный  
периодонтит**



# Спасибо за внимание !

- Список литературы :
- <https://www.pharmacokinetica.ru/jour/article/download/87/87>
- <https://biochemmack.ru/upload/uf/e26/e26edd9f1dc0694b503a05bb677b8a90.pdf>
- The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in human caries / C. Chaussain-Miller [et al.] // J Dent Res. – 2006. – Vol. 85 (1). – P. 22–32.6.
- Dayan, D. A preliminary study of activation of collagenase in carious human dentine matrix / D. Dayan, I. Binderman, G. L. Mechanic // Arch Oral Biol. – 1983. – Vol. 28 (2). – P. 185–187.17.
- Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis / W. Lee [et al.] // J Periodontal Res. – 1995. – Vol. 30 (1). – P. 23–33.18.
- Self-etching increases matrix metalloproteinase expression in the dentin-pulp complex / N. Lehmann [et al.] // J Dent Res. – 2009. – Vol. 88(1). – P. 77–7.
- Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins / M. Demeule [et al.] // Biochim Biophys Acta. – 2000. – Vol. 1478 (1). – P. 51–60.8.
- Tumor gelatinases and invasion inhibited by the green tea flavanol epigallocatechin-3-gallate / S. Garbisa [et al.] // Cancer. – 2001. – Vol. 91 (4). – P. 822–832.9.
- Inhibition of the activities of matrix metalloproteinases 2, 8, and 9 by chlorhexidine / R. Gendron [et al.] // Clin Diagn Lab Immunol. – 1999. – Vol. 6 (3). – P. 437–439.

