

# Матриксные металлопротеиназы

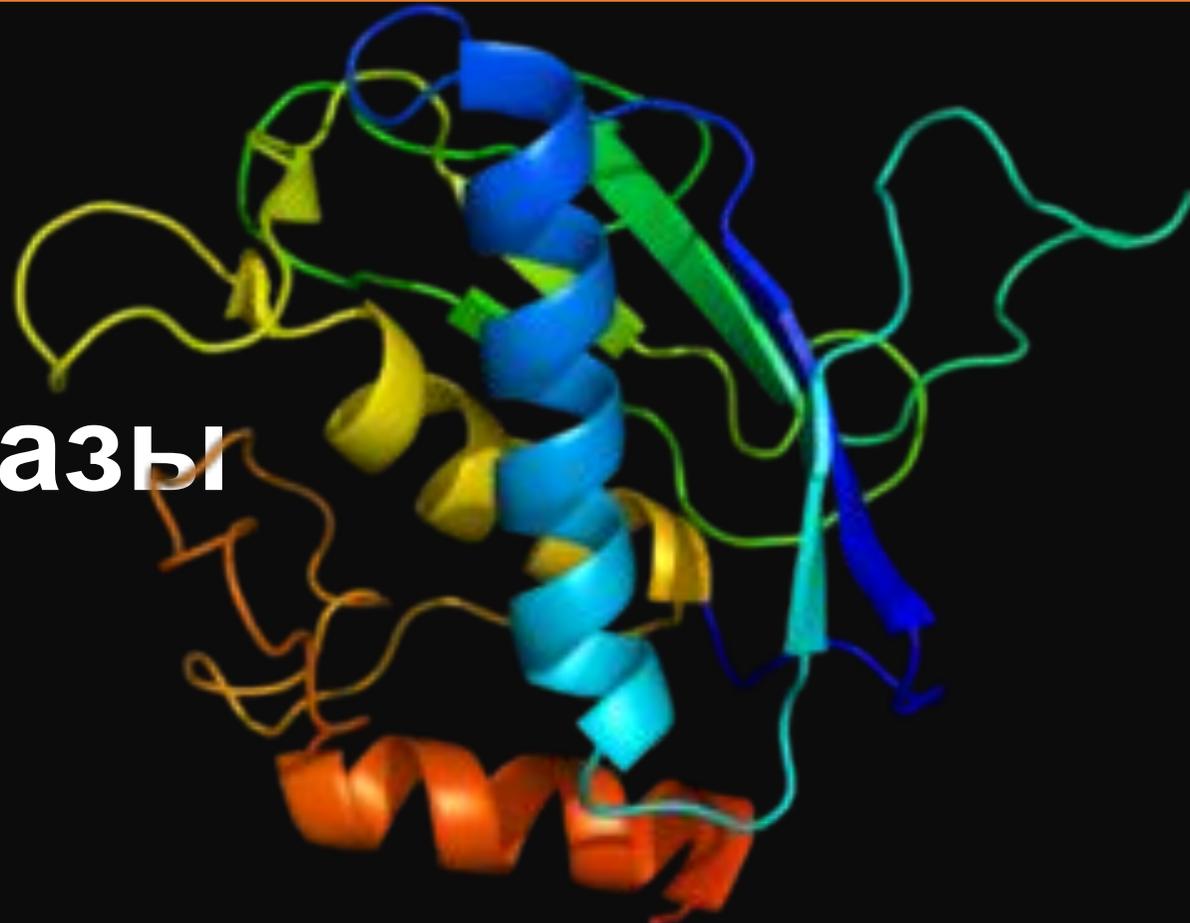
Выполнили студенты

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.

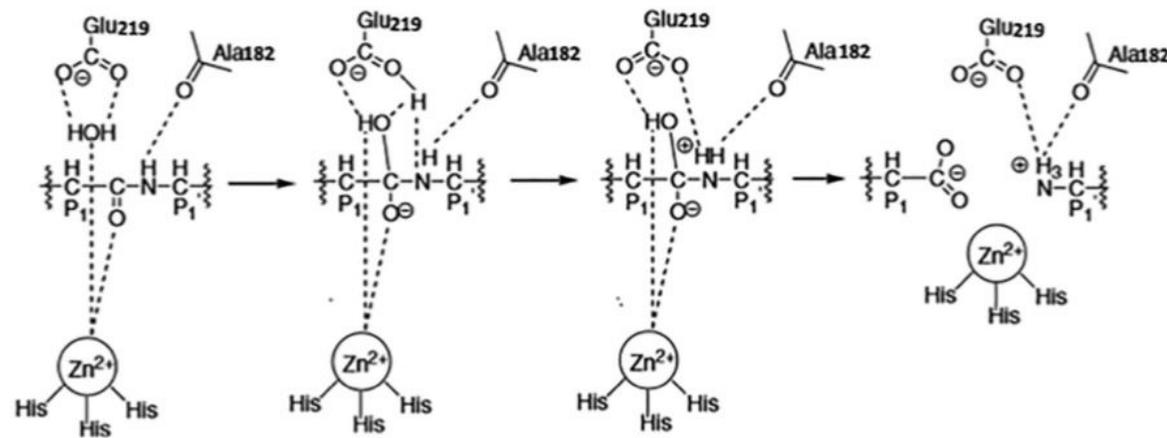


Рис. 1. Схематическое изображение механизма гидролиза пептидной связи в присутствии иона цинка  $Zn^{2+}$  ММП. Ион цинк, входящий в активный центр ММП, координирован тремя остатками гистидина (His). Частично обозначены аминокислоты Glu219 и Ala182, которые участвуют в процессе гидролиза [3].

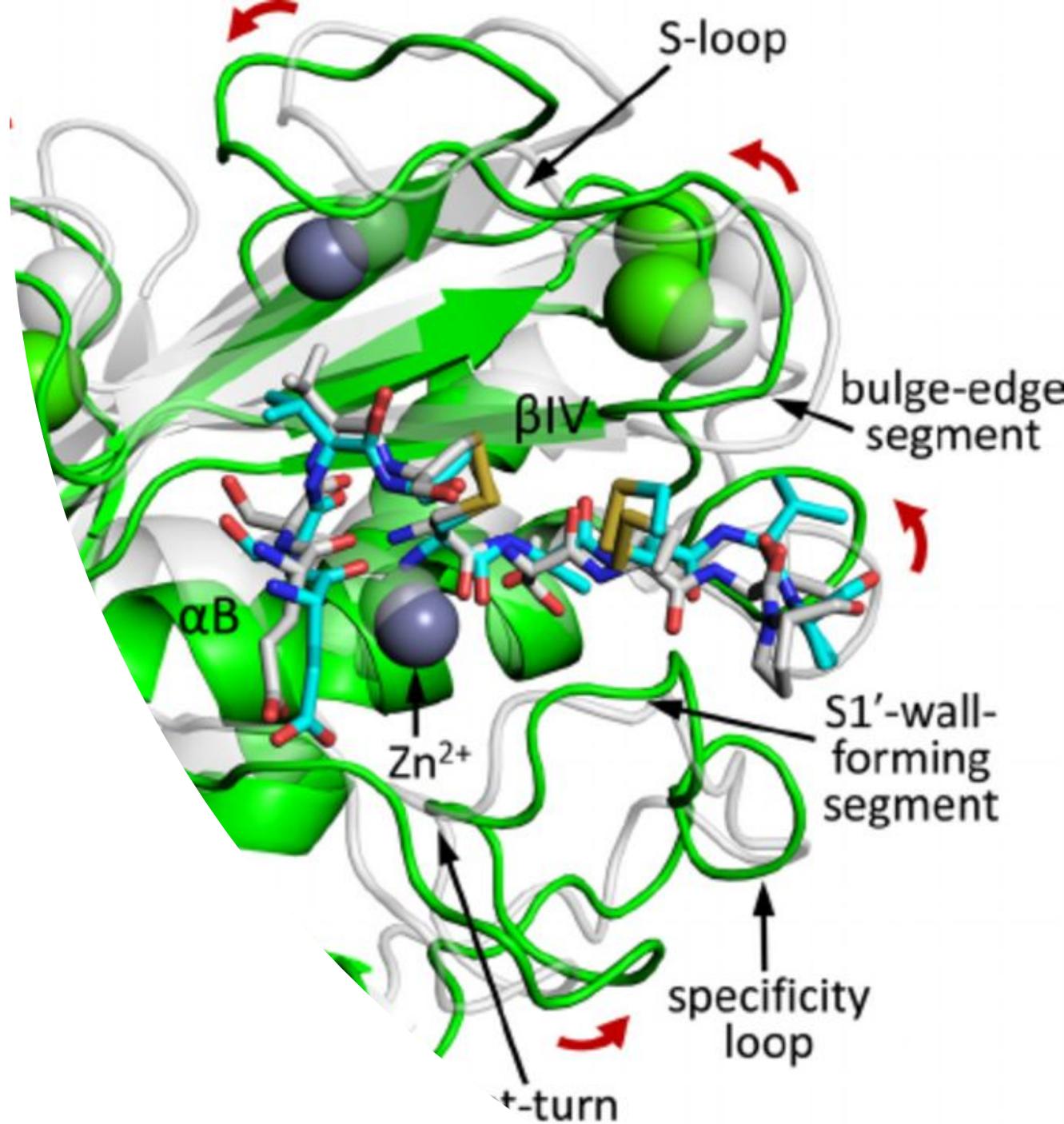
- Семейство цинксодержащих металлопротеиназ

---

- 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 «матриксина» 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

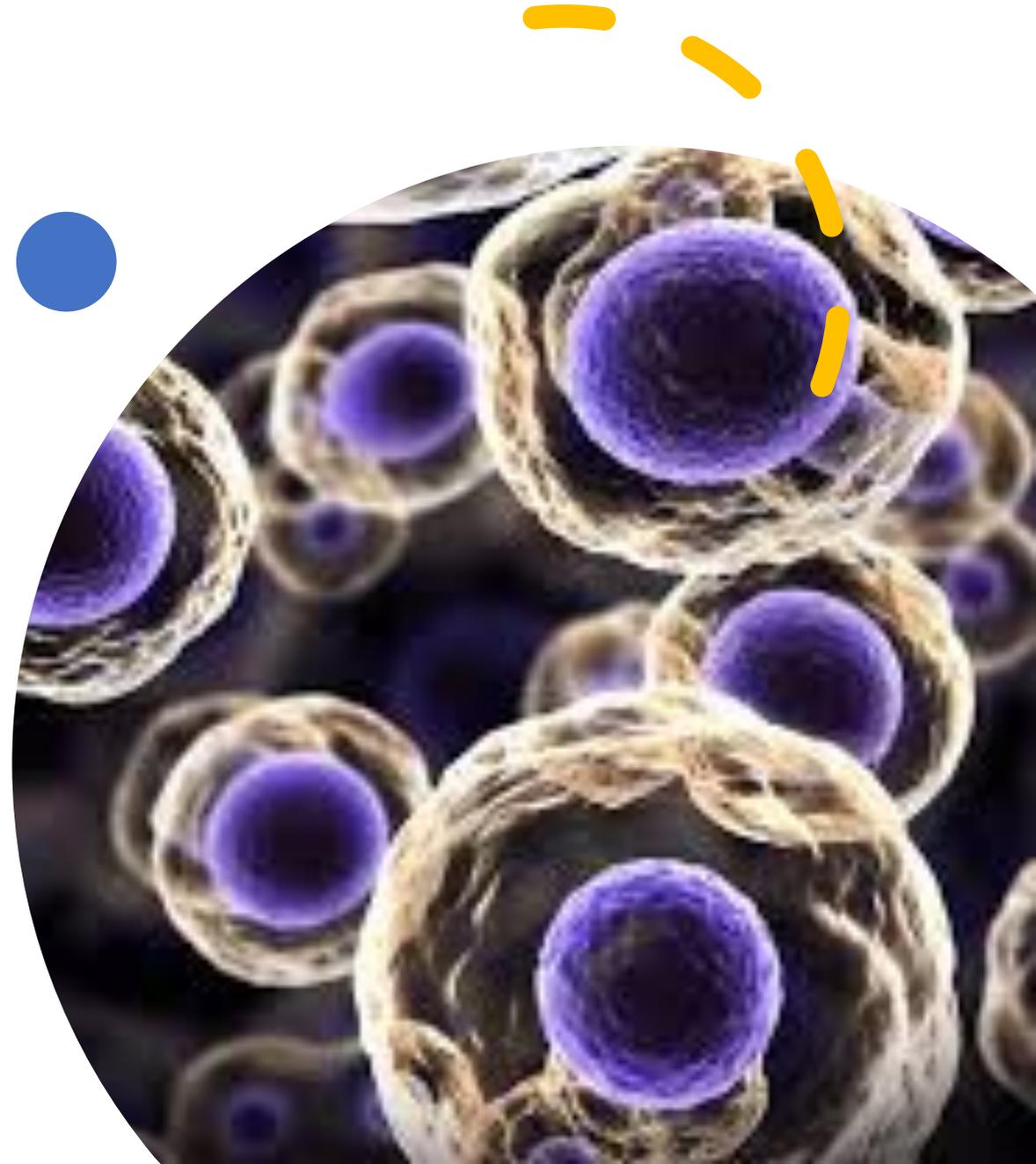
В 1994 г. с помощью рентген-кристаллографии лабораторией Longley были получены 3D структуры каталитических доменов ММП-1 и ММП-8 [9]. В 1995 г. удалось получить кристаллическую структуру у всей молекулы коллагеназы 1. В 1996–1997 гг. благодаря рентгеноструктурному анализу удалось получить 3D структуры 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

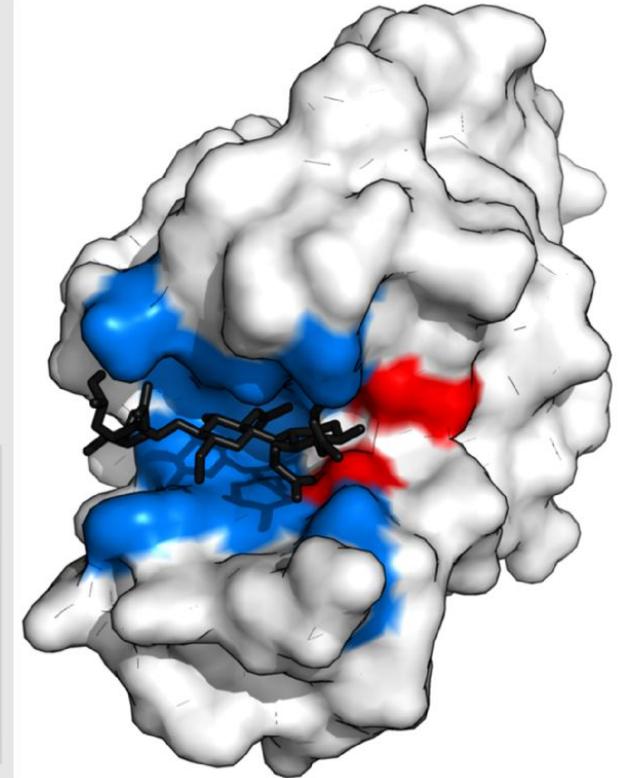
## Активный центр

### Сайт связывания

Связывает и ориентирует субстрат(ы)

### Каталитический сайт

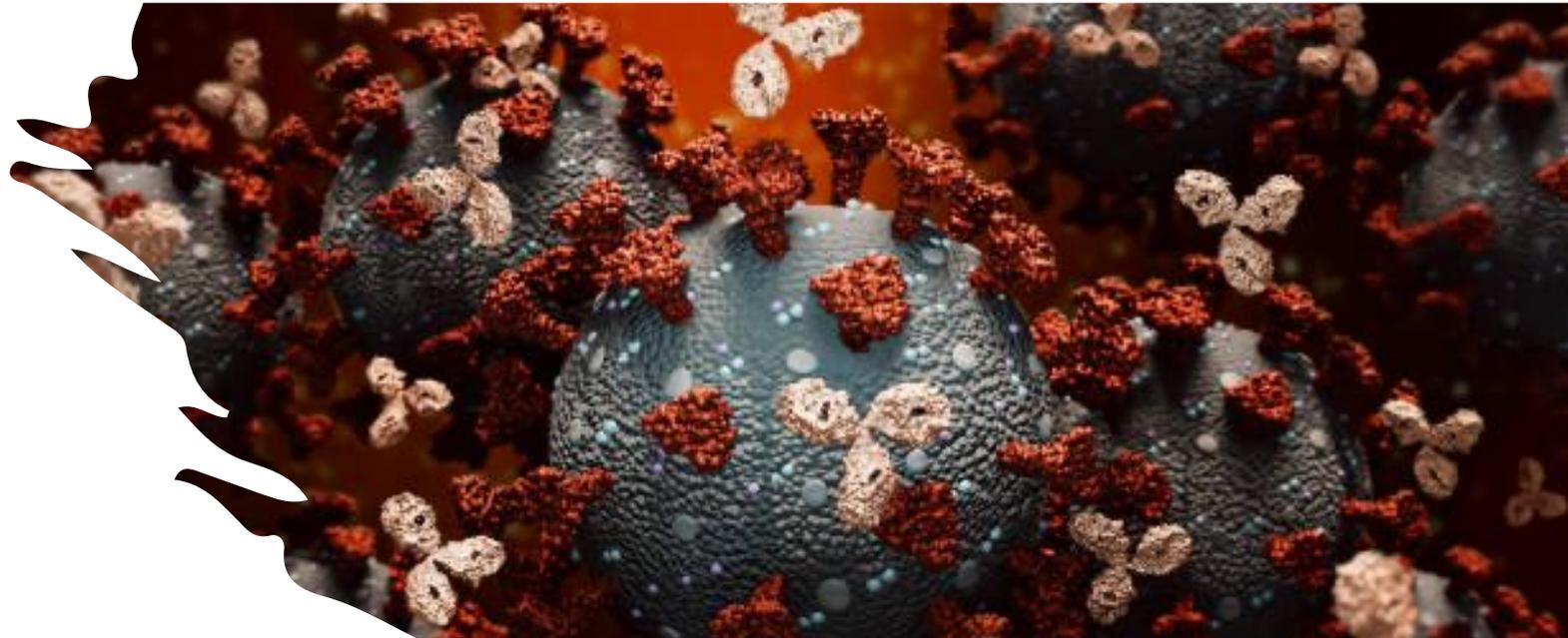
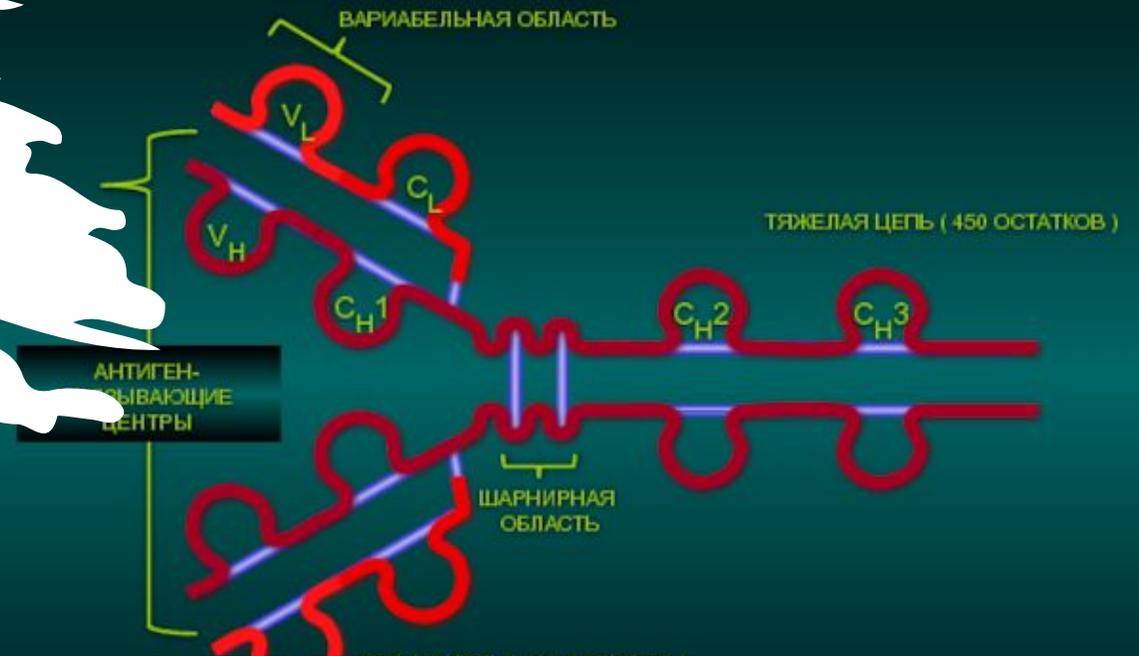
Снижает энергию химической активации



# 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

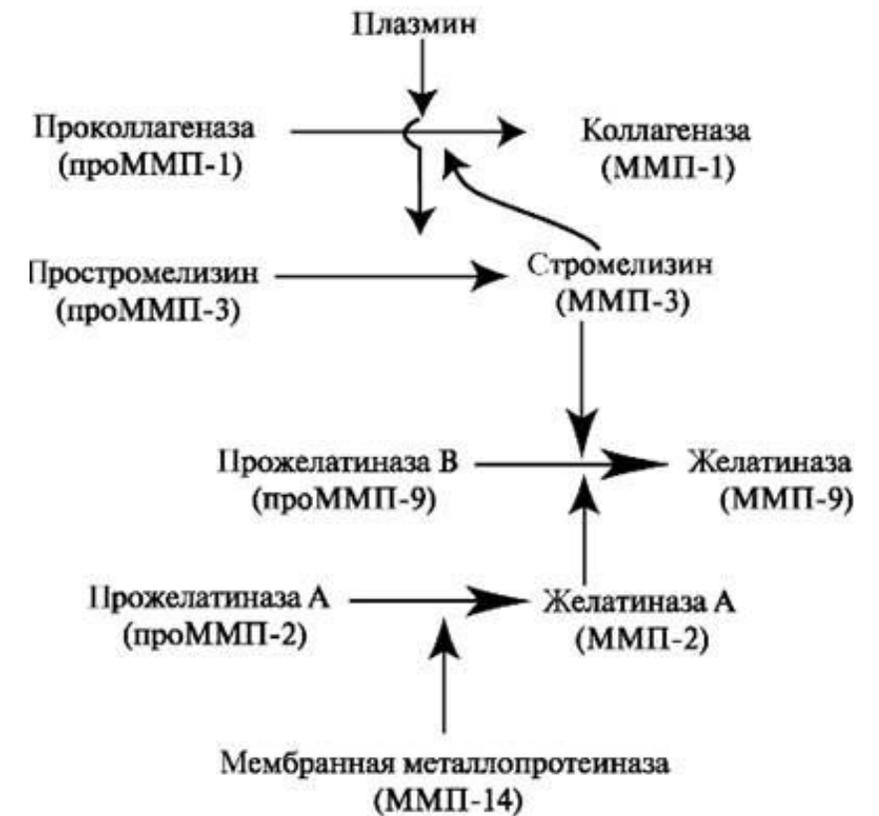
Zinc

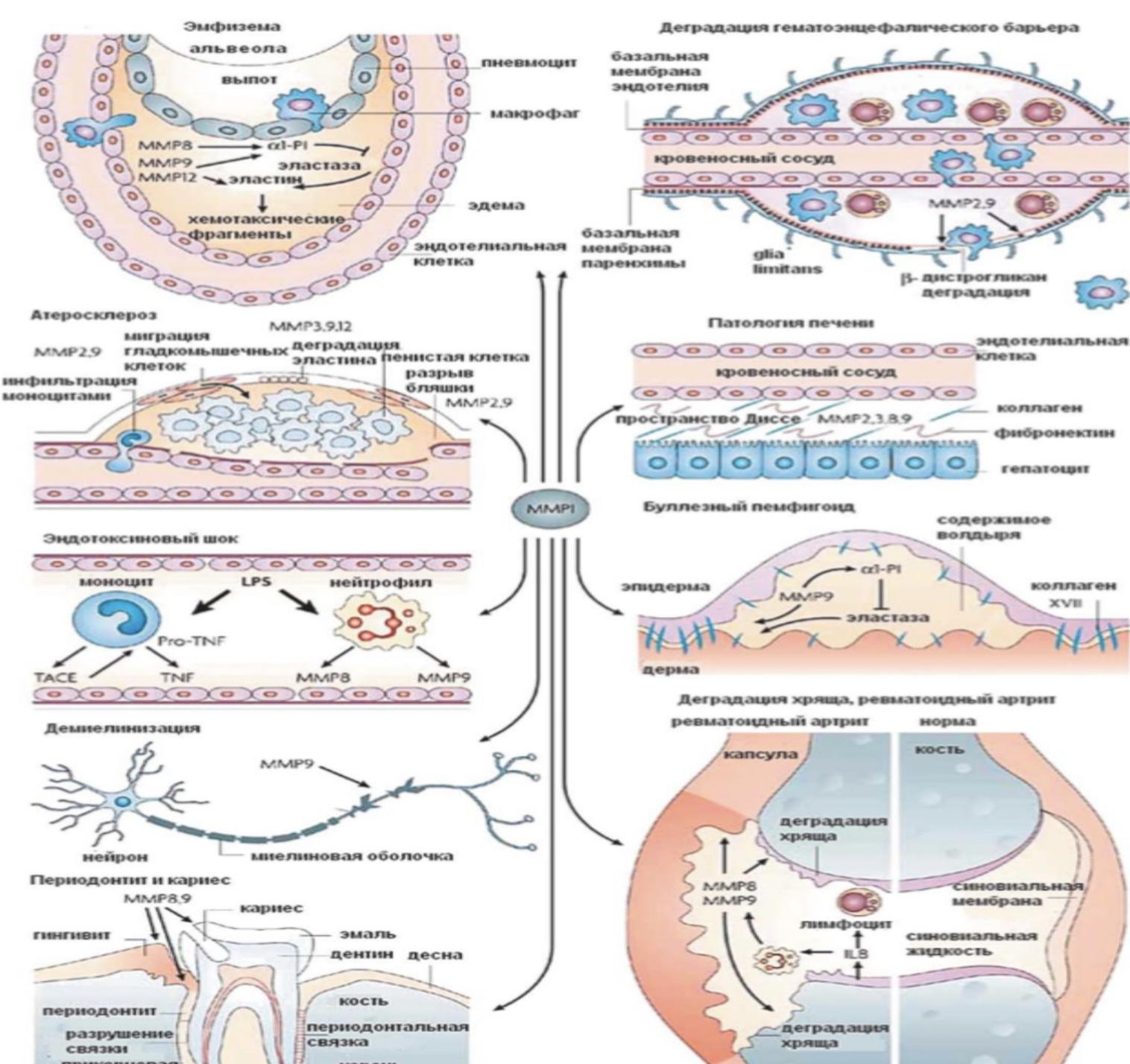
# Классификация матриксных металлопротеиназ

- 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 (Nuxley-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.

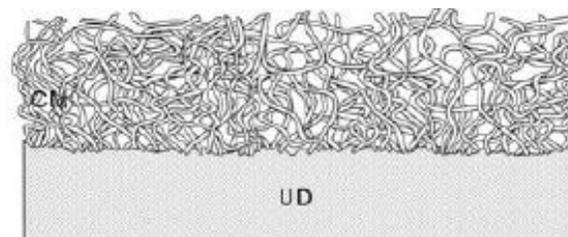




MMPs при различных заболеваниях

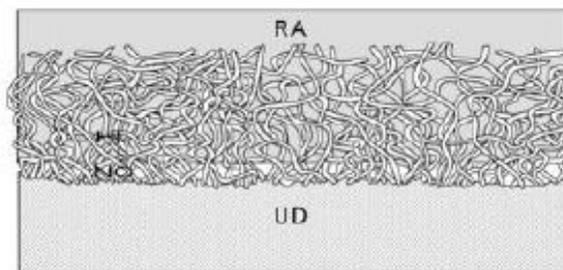
# ММП в СТОМАТОЛОГИИ

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



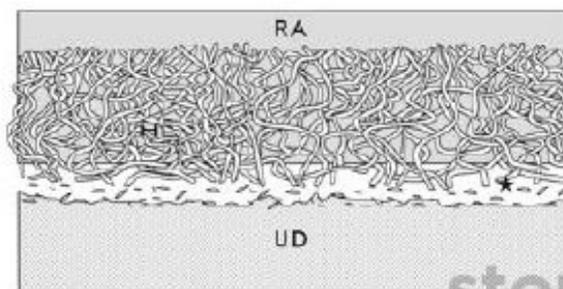
UD

A



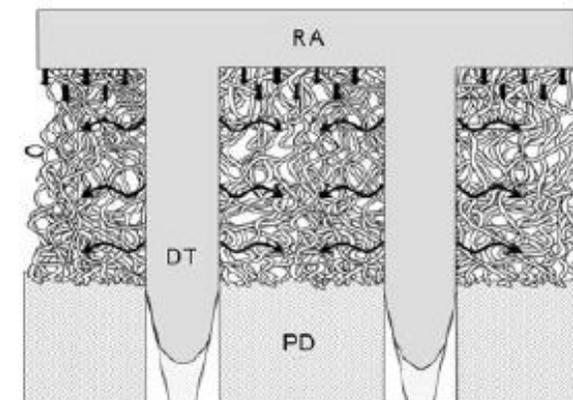
UD

C

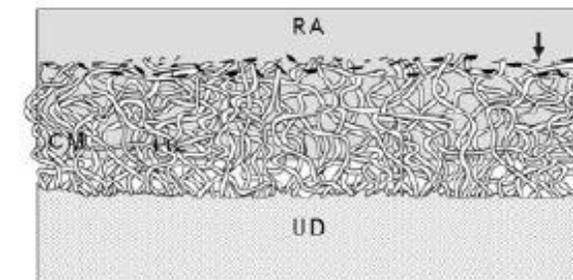


UD

D



B

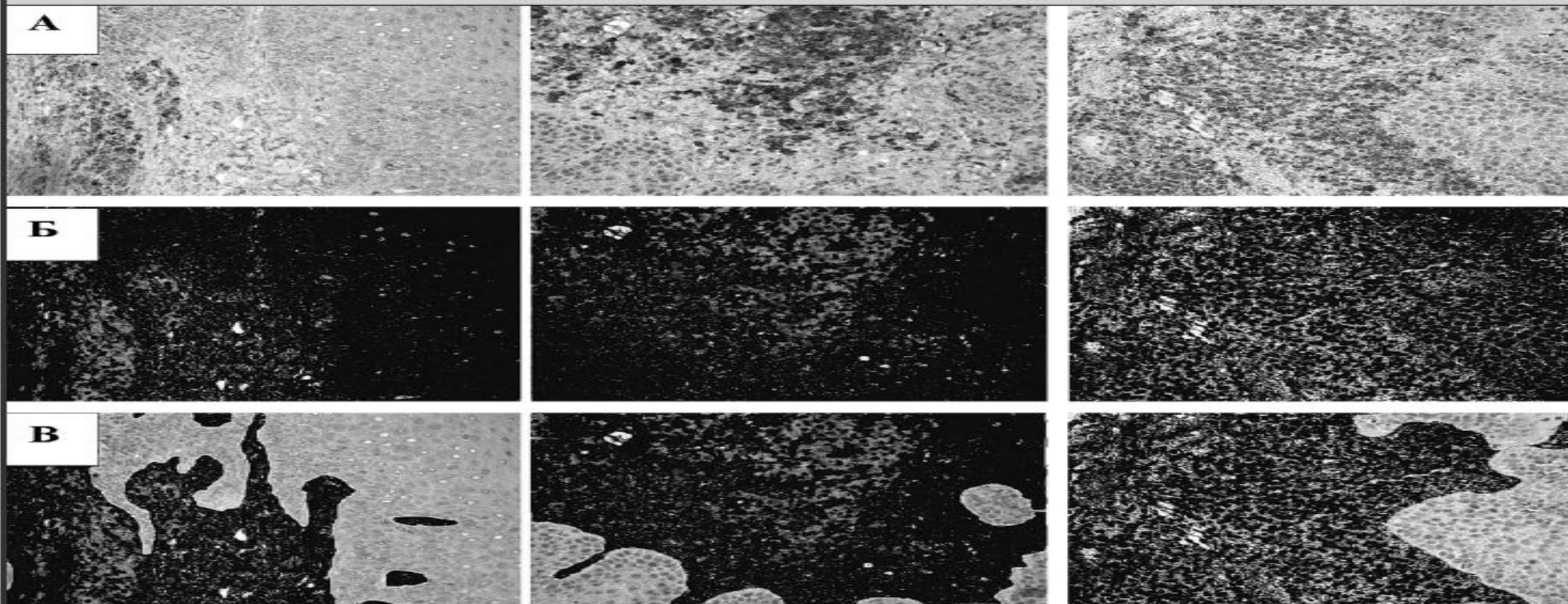


UD

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.

