۱۳۹۰/۲/۱۸

دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته بیوشیمی

عنوان:

بررسی میزان ماتریکس متالوپروتئیازهای 2 و9 (MMPs- 2, ,9)و مهارکننده‌های ماتریکس متالوپروتئیناز 1و2 (TIMP-1، TIMP-2) در اشک چشم افراد مبتلا به آرتریت روماتوئید که دارای سندروم خشکی چشم می باشند.

مولف: محمد گودرزی

اساتید راهنما: دکتر مجید شهرتی- دکتر علیشیری-دکتر صالح مقدم- دکتر حاج حسینی

۱۳۹۰/۱/۲۵

دی ماه 1389

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران
IRANDOC
مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

۱۵۵۱۰۲

جمهوری اسلامی ایران

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

دانشگاه پیام نور
خراسان رضوی
باسمه تعالی

تاریخ: ۱۳۸۹/۱۰/۷

شماره: ۰۸۱۰/۳۹۱۶۱۶

پیوست:

تصویب نامه پایان نامه

پایان نامه تحت عنوان : **" بررسی میزان ماتریکس متالوپروتئینازهای ۲و۹ (MMPs-2,9) و مهارکننده های ماتریکس متالوپروتئیناز ۱و۲ (TIMP-2 , TIMP-1) در اشک چشم افراد مبتلا به آرتریت روماتوئید که دارای سندروم خشکی چشم می باشند"** که توسط خانم **محمد گودرزی** دانشجوی دوره **کارشناسی ارشد** رشته **بیوشیمی** مرکز **مشهد** تهیه و به هیات داوران ارائه گردیده است مورد تایید می باشد.

تاریخ دفاع : ۸۹/۱۰/۷ نمره : ۱۹ درجه ارزشیابی : عالی

اعضاء هیات داوران:

نام و نام خانوادگی	مسئولیت	مرتبه علمی	امضاء
دکتر مجید شهرتی	استاد راهنما	دانشیار	
دکتر مسعود صالح مقدم	استاد راهنما	استادیار	
دکتر رضا حاجی حسینی	استاد مشاور	دانشیار	
دکتر حسن رامشینی	استاد داور	استادیار	
دکتر علیرضا اکبری	نماینده گروه آموزشی	استادیار	

۱۳۹۰/۱/۲۵

چکیده:

مقدمه: هدف از این مطالعه مقایسه میزان MMP-2, 9ومیزان TIMP-1,2در اشک چشم افراد مبتلا به بیماری آرتریت روماتوئید که دارای خشکی چشم مزمن هستند، با گروه شاهد می باشد.

مواد وروشها:در این مطالعه 25 نفر از افراد مبتلا به بیماری آرتریت روماتوئید که دارای خشکی چشم مزمن هستند با گروهای شاهد شامل 25 نفر که دارای خشکی چشم مزمن بدون ابتلا به بیماری آرتریت روماتوئید و 25 نفر سالم مورد ارزیابی قرار گرفتند و میزان MMP-2, 9 ومیزان TIMP-1,2 در اشک چشم این سه گروه با روش الا یزا وهمچنین میزان پروتئین تام در اشک سه گروه با روش برادفورد اندازه گیری شد.

نتایج:مقدار متوسط (5 /5 ±88 /27) MMP-2 , (2002 ± 2697)MMP-9و(113 ± 510)TIMP-1,(26 ± 60/6)TIMP-2 در اشک چشم افراد مبتلا به بیماری آرتریت روماتوئید که دارای خشکی چشم مزمن در مقایسه با افرادسالم (4 /4 ±18/64) MMP-8 , (1029 ± 977)MMP-9 و (185 ± 394)TIMP-1, (9/5 ± 25/8)TIMP-2همچنین مقدار متوسط پروتئین تام (2/2±12/4) در اشک چشم افراد مبتلا به بیماری آرتریت روماتوئید که دارای خشکی چشم مزمن در مقایسه با افرادسالم (2/29 ± 5 /7) بالا تر است.

بحث:بالا بودن میزان MMP-2,9 در اشک چشم افراد مبتلا به بیماری آرتریت روماتوئید که دارای خشکی چشم مزمن که از عوامل موثر درروند ایجاد التهاب می باشند،می تواند دلیلی بر علت وجود این ضایعات در چشم افراد مبتلا به بیماری آرتریت روماتوئید باشد.

کلمات کلیدی: آرتریت روماتوئید،TIMPs،MMPs

فهرست مطالب ....صفحه

فصل اول:

بیان مسئله 5
ماتریکس متالوپروتئینازها(ماتریکسین‌ها):MMPs 8
طبقه بندی ماتریکسین‌ها: 8
-کلاژنازها 9
-ژلاتینازها 9
-استروملیزین‌ها 10
-ماتریلیزین‌ها 10
-MMPهای غشایی 10
-سایر MMPها 11
دمین های ساختاری ماتریکس متالوپروتئینازها 13
موتیف های حفظ شده در ساختار ماتریکسین‌ها 15
فعالیت MMP ها در محیط invivo در چندین سطح تحت کنترل می شود 15
مکانیسم کاتالیتیک 16
فعال سازی ProMMPs 17
ماتریکس متالوپروتئیناز 2 ؛(MMP-2) 19
ماتریکس متالوپروتئیناز 9؛ (MMP-9) 21
اعمال مهم MMPها 22
-رشد سلولی 23
-آپوپتوز 24
-مهاجرت سلولی 24
-اثرات بین سلولی 25
-نقش عوامل MMP در گسترش تومورها 26
مهارکننده‌های MMP (TIMP) 27
تنظیم تولیدTIMP 28
اعمال منتسب به TIMP 29
-تنظیم رشد سلولی 29
-فعالیت ضد آپوپتوزی 30
-خواص استروئیدوژنیک 30

فهرست مطالب ..... صفحه

-خاصیت ضد آنژیوژنیک ..... 31.

-فعالیت آمبریوژنیک 31

-هماتوپوئز 32

-TIMP-ها در سرطان 33

اطلاعات کامل ژنومی 34

اطلاعات کامل پپتیدی 35

جدول های مربوط به تولی اسیدهای آمینه MMPها وTIMPها 36

اطلاعات ژنوم :MMP-1 38

اطلاعات ژنوم: MMP-2 39

اطلاعات ژنوم: MMP-8 40

اطلاعات ژنوم :MMP-9 41

اطلاعات ژنوم :TIMP-1 42

اطلاعات ژنوم: TIMP-2 43

موقعیت کروموزومی MMPهاوTIMPها 44

چشم انسان 50

-قرنیه 50

-عنبیه 51

-سیستم اشکی 51

-اختلالات سیستم تولید کنندهٔ اشک 51

-اشک 54

-سندرم چشم خشک (کراتوکنژنکتیویت سیکا) 55

-یافته های تشخیصی آزمون شیرمر 56

هدف کلی 59

اهداف جزئی 59

اهداف کاربردی 59

سوالات 60

فرضیات سوالات 60

جامعه مورد مطالعه 61

حجم نمونه 61

ملاحظات اخلاقی 61

مشکلات و محدودیت های 61

فهرست مطالب ..... صفحه

شرایط ورود به مطالعه 62

شرایط خروج از مطالعه 62

واژه نامه و اصطلاحات فنی 67

جدول متغیرها 63

فصل دوم:

نمونه گیری 65

-معاینه جامعه آماری توسط چشم پزشک 65

-انجام تست شیرمر 65

-نحوهٔ نمونه گیری اشک 66

-نحوهٔ استخراج اشک از اسفنج ها 66

-رقیق سازی اشک جهت انجام تست الایزا 67

انجام تست الایزا 67

-معرفها 67

-موارد مور نیاز اضافی 68

-آماده سازی معرفها 69

-تهیه استانداردها 70

-مراحل سنجش 74

سنجش میزان پروتئین تام در نمونه ها 75

-مراحل انجام تست برادفورد 75

-مواد لازم 76

-تهیه بافر براد فورد 76

-رسم منحنی استاندارد 77

فصل سوم:

آنالیزآماری و نتایج 81

خلاصه ای ازمراحل آنالیزآماری 81

نتایج

فرضیه کلی A 87

-جدول Mean±Std.Deviation مربوط به سن گروه های مطالعاتی 82

-جدول Mean±Std.Deviation مربوط به کمیتهاب اندازه گیری شده 83

-بررسی فرضیه های مطرحی A 85

فرضیه کلی B 98

فهرست مطالب..... .....صفحه

-جدول بررسی همبستگی بین میزان کمیتهای اندازه گیری شده ومدت زمانی که.... 98

-نتیجه گیری..... 99

نمودارهای پراکنش (Scatter)..... 100

فصل چهارم:

تفسیر نتایج و بحث..... 107

منابع..... 111

فصل اول

بیان مسئله:

آرتریت روماتوئید یک آسیب التهابی مزمن و معمول و غیرقابل درمان است. این بیماری هزینه های اقتصادی، اجتماعی و فردی قابل توجهی را بر جامعه تحمیل میکند. در طی سالهای گذشته پیشرفت چندانی در درمان این بیماری حاصل نشده است.80% بیماران پس از گذشت 20 سال توانایی کار کردن و حضور مستمر در اجتماع را از دست میدهند(1) و امید به زندگی در آنها نسبت به افراد سالم به طور میانگین بین 18 3 سال کاهش میابد(2). هزینهء درمان آرتریت روماتوئید برای هر فرد به طور متوسط در یک سال در کشور آمریکا 5919 دلار (3) و در کشور انگلیس 2600 پوند (4) میباشد.

بررسی پاتوژنز غشاء سینوویال (مایع مفصلی) در بیماران که مبتلا به آرتریت روماتوئید هستند، هیپرپلازیا، رگزایی، نفوذ سلولهای التهابی در غشاء (که در ابتدا بیشتر به صورت سلولهای $TCD4^+$ که تنظیم کننده اصلی پاسخهای ایمنی با واسطه سلولها می باشد) را نشان میدهد (5). سلولهای $TCD4^+$ که توسط آنتی ژن فعال می شوند مونوسیت ها ، ماکروفاژها و فیبروبلاست های مایع مفصلی را تحریک به تولید سیتوکین های TNF-α،IL6،IL1 و ماتریکس متالو پروتئنازها [1](MMPs) می کنند(6). مونوسیت ها، ماکروفاژها فیبرو بلاستها و Tcell ها بر اثر تحریک مقدار زیادی سیتوکین آزاد می کنند. بیشتر این سیتوکین ها شامل TNF-α, IL-1 می باشد که در مایع مفصلی و سرم این بیماران قابل تشخیص است.(7, 8, 9)TNF-α و IL-1 محرکهای قوی سلولهای مزانشیمی مانند فیبروبلاستهای مایع مفصلی، استئوکلاستها و کندروسیتها هستند. این سلولها MMP ها را

[1] Matrx Metalloproteinases

که از بین برنده بافت هستند آزاد می کنند. IL-1 و TNF-α همچنین می توانند تولید TIMPs[2] توسط فیروبلاستهای مایع مفصلی را مهار کنند (10).

یکی از آسیبهایی که افراد مبتلا به آرتریت روماتوئید را درگیر می کند سندروم خشکی چشم است(11). این سندروم به عنوان یک بیماری فراگیر دهها میلیون انسان را در تمام جهان متاثر ساخته است.(12) سندروم خشکی چشم به اشکال مختلف بروز می کند. انستیتو ملی چشم آمریکا با استناد برآزمایشهای کلینیکی این سندروم را به دو گروه اصلی تقسیم می کند: a)کمبود اشکی که به واسطه سندروم شوگرن و غیر شوگرنی ایجاد می شود b) کمبود اشکی که به واسطه ی اشکال تغییری در اشک چشم به وجود می آید(13).

هرچند در حال حاضر عامل یا مکانیسم های ایجاد این بیماری به درستی شناخته نشده است ولی از شواهد امر چنین بر می آید که سندروم خشکی چشم به عنوان یک فرایند التهابی می تواند سطح چشم و غدد اشکی را تحت تأثیر قرار دهد(14). در واقع بروز التهاب یک مکانیسم کلیدی در آسیب سلول های ملتحمه و قرنیه است و میتوان گفت که تمامی اشکال خشکی چشم دارای درجات مختلف التهاب در سطح چشم هستند(15). سلول های ایمنی فعال شده در جریان التهاب سبب تولید سیتوکین هایی مثل IL1,IL2,TNF-α می شوند. افزایش این سیتوکین ها به نوبه خود منجر به از بین رفتن ساختار ترشحی غدد اشکی و عدم عملکرد مناسب سایر بافتهای ترشح کننده اشک چشم و در نهایت بروز سندروم خشکی چشم می شوند(16,17). علاوه بر موارد فوق درچشم افراد مبتلا به خشکی چشم نیز افزایش میزان MMPs(2, 9) در اشک گزارش شده است (18). این آنزیم ها قادرند پروتئینهای دخیل در ایجاد اتصالات محکم در قرنیه را از بین ببرند. همچنین دیده شده است که(MMPs(2,9 در فرایند

[2] Tissue Inhibitor of Metalloproteinases

رگزایی ناشی از التهاب در قرنیه نیز نقش اساسی دارند(19). نقش MMP 2 در نئوواسکولاریزاسیون شبکیه در افراد دیابتی نیز به اثبات رسیده است(20,21,22).

ماتریکس متالوپروتئینازها آنزیم های وابسته به روی هستند و باعث تجزیه ماتریکس خارج سلولی می شوند MMPs.(23,24) توسط سلولهای مختلف شامل ماکروفاژها، فیبروبلاستها، نوتروفیل ها، سلولهای سنوویال و بعضی از سلولهای اپیتلیال ترشح می شوند که ترشح آنها به واسطه فاکتورهای رشد شامل PDGF و FGF و سیتوکین هایی شامل IL1 و TNF-α تحریک می شود (25). از طرف دیگر ترشح این آنزیمها در سطوح مختلف کنترل می شود. مهم ترین مهار کننده آنها TGF-B و TIMPs هستند(23-26).درحال حاضر 23 نوع MMP در انسان شناسایی شده است که در 6 گروه طبقه بندی شده اند که دو گروه اصلی آنها عبارتند از کلاژنازها شامل MMPs(1,8,13) که در تجزیه کلاژن های فیبریلار شامل کلاژن 3,2,1 نقش دارند و ژلاتینازها شامل MMP(2,9) که باعث تجزیه کلاژن آمورف ، فیبرو لکتین و لامینین می شوند. (27) با توجه به پراکندگی سر تا سری کلاژن های غیر فیبریلار در بافت همبندی در تمامی بدن، نقش ژلاتینازها در تعادل ماتریکس بین سلولی بسیار مهم است. همان طور که اشاره شد MMPs توسط TIMPs کنترل می شود، در حال حاضر 4 نوع TIMP شناسایی شده است که با توجه به پراکندگی بافتی و عملکرد، انواع TIMP(1,2) دارای اهمیت اساسی هستند TIMP-1(28,29) تمایل بیشتری به MMP-9 دارد(30).TIMP-2 با تمایل بیشتری MMP-2 را مهار می کند (31, 32). این دو با غلظت ثابتی در سرم وجود داشته و توسط انواع سلولها ترشح می شوند.

با توجه به اینکه اکثر افراد مبتلا به آرتریت روما توئید دچار سندروم خشکی چشم نیز می باشند. لذا میتوان بر این باور بود که عوامل دخیل در التهاب در افراد مبتلا به آرتریت روما توئید ازطریق سیستم گردش خون زمینه، ایجاد

التهاب در چشم در نتیجه فرایند ایجاد خشکی چشم در این افراد را فراهم می نمایند و طبق آنچه که گفته شد MMPs(2,9)از آنزیمهای مهم دخیل در آسیب به غدد اشکی می باشد. لذا تصمیم براین گرفتیم تا میزان این دو آنزیم به همراه مهار کننده آنها را در اشک چشم افراد مبتلا به آرتریت روما تونید که دچار خشکی چشم هستند اندازه بگیریم.

-ماتریکس متالوپروتئینازها(ماتریکسین ها):MMPs

ماتریکس متالوپروتئینازها یک خانواده متالوپپتیدازهای روی(Zn)دار هستند که بوسیله سلولها ترشح می شوند و مسئول تجزیه ماتریکس خارج سلولی(ECM) می باشند آنها جزءدسته MB^3 از متالو پپتیدازها می باشند که در جایگاه فعال حاوی Zn^{2+} هستند. اعضای دسته MB به طور کلی با عنوان MetZincic شناخته می شوند از آنجائیکه آنها همگی دارای یک باقی مانده Met محافظت شده می باشند که یک پیچش 8 باقی مانده پایین دست جایگاه فعال را شکل می دهند.MMPs ها متعلق به خانواده MB10 هستندکه خانواده MB10 به دو زیر خانواده A, Bتقسیم می شوند و MMP ها متعلق به زیر خانواده A هستند وتحت عنوان ماتریکسین‌ها شناخته می شوند.MMP ها در گونه های مهره داران دارای اعضای بیشتری نسبت به بی مهرگان هستند.

طبقه بندی ماتریکسین‌ها:

در دم بچه قورباغه شناخته شد که نوعی کلاژناز بود. تاکنون 24 نوع MMPهای اولین بار خاصیت مولکول مختلف شناسایی شده است که فعالیت 23 مورد آن در انسان دیده شده است(جدول 1). تشابه توالی، یک MMP

[3]Medulloblastoma

شود و یک موتیف اتصال روی[6] در موتیف سیستئینی[4] در پروپپتید که باعث نگهداری آنزیم در حالت زیموژن[5] می بندی این پروتئینها در یک گروه شده است. تنها استثناء در این گروه ناحیه کاتالیتیک این آنزیمها باعث طبقه باشد. عموما دارای یک ناحیه کاتالیتیک، یک پرودومین، یک ناحیه است که فاقد موتیف سیستئینی می MMP-23 شوند به محیط خارج سلولی یا به غشا سلولی متصل لولا[7] و دومین هومئوپکسین[8] هستند. این پروتئینها یا ترشح می (33)شوند.هستند. بر اساس تشابه سوبسترا، تشابه توالی و ساختار دومینی این پروتئینها به 6 گروه تقسیم بندی می

1. کلاژنازها[9]

MMPs (1, 8, 13, 18) در این دسته قرار دارند. تشابه اساسی این گروه توانایی تجزیه کلاژنهای اینترستیشیال شامل کلاژن تیپ 1، 2 و 3 در ناحیه خاصی از پروتئین که حدود سه چهارم طول پروتئین از سمت N-ترمینال است. اعضا این گروه همچنین قادر به تجزیه دیگر پروتئینها نیز هستند (33).

2. ژلاتینازها[10]

شامل ژلاتیناز A (MMP-2) و ژلاتیناز B (MMP-9) است. این گروه قادر به تجزیه کلاژن دژنرسانس یافته (ژلاتین) می‌باشد. این آنزیمها دارای سه دومین در ناحیه کاتالیتیک هستند که قادرند به ژلاتین، کلاژن و لامینین متصل شوند..MMP-9 قادر است کلاژنهای 1و 2 و 3 را نیز تجزیه کند (34و35). یک بیماری شناخته شده نادر به عنوان استئولیز مولتی‌سنتریک که یک سندرو اتوزوم مغلوب است ناشی از موتاسیون در MMP-2 است (36).

---

[4] **cysteine switch motif**
[5] **zymogen**
[6] **zinc-binding motif**
[7] **hinge region**
[8] **hemopexin domain**
[9] **Collagenases**
[10] **Gelatinases**

3. استرومليزين‌ها[11]

استرومليزين 1 (MMP-3) و استرومليزين 2 (MMP-10) در اين گروه سوبسترا يكسانى دارند . اما به طور كلى فعاليت MMP-3 بيشتر از MMP-10 است. علاوه بر آن MMP-3 در فعال كردن بعضى MMPهاى ديگر نقش دارد و نقش آن به خصوص در فعال كردن MMP-1 حياتى است (37). MMP-11 عليرغم تفاوت ساختارى با ديگر پروتئينهاى اين گروه، گاهى به دليل سوبسترای يكسان تحت عنوان استرومليزين 3 در اين گروه قرار داده مى‌شود.

4. ماتريليزين‌ها[12]

اين گروه فاقد دومين هموپكسين هستند. ماتريليزين 1 (MMP-7) و ماتريليزين 2 (MMP-26) كه اندومتاز[13] نيز ناميده مى‌شود در اين گروه قرار دارند. علاوه بر ماتريكس خارج سلولى MMP-7 در تجزيه پرو آلفاديفنسين[14]، Fas-ligand، pro-TNF-α و E-cadherin غشاء سلولى نقش دارد.

5. MMPهاى غشايي (MT-MMP)[15]

شش آنزيم در اين گروه قرار مى‌گيرند. چهار عدد از آنها پروتئينهاى غشايى هستند شامل MMP-14 (MT1-MMP)، MMP-15 (MT2-MMP)، MMP-16 (MT3-MMP) و MMP-24 (MT4-MMP). دو مورد نيز از انواع متصل شونده به گليكوزيل فسفاتيديل اينوزيتول[16] هستند شامل MMP-17 (MT5-MMP) و MMP-25 (MT6-MMP). به جز MT4-MMP همگى در فعال نمودن proMMP-2 نقش دارند. همگى

---

[11] **Stromelysins**
[12] **Matrilysins**
[13] **endometase**
[14] **pro– α -defensin**
[15] **Membrane-Type MMPs**
[16] **glycosylphosphatidylinositol**

در تجزیه ماتریکس خارج سلولی دخیل اند و MT1-MMP در تجزیه کلاژنهای تیپ I، 2 و 3 و نیز در آنژیوژنز نقش دارد (38و39).MT5-MMP تنها در مخچه بیان می‌شود (40).MT6-MMP نیز به طور عمده در گلبولهای سفید بیان می‌شود. هر چند در آستروسیتوما و گلیوبلاستوما نیز دیده شده است (41و42).

6. سایر MMPها

MMP-12 به طور عمده در ماکروفاژها بیان می‌شود و در مهاجرت آن نقش اساسی دارد. در تجزیه الاستین و بعضی پروتئینهای دیگر نقش دارد (43).

MMP-19 از سلول‌های کبدی و نیز به عنوان یک اتوآنتی‌ژن از بیماران با روماتویید آرتریت جدا گشته است (44).

MMP-20 که آملوژنین[17] موجود در مینای دندان را تجزیه می‌کند. بیماری ژنتیکی با علایم دندانی به دلیل نقص در این آنزیم شناخته شده است (45)

MMP-22 برای اولین بار در فیبروبلاست‌های کلون شده مرغ وپسپس در انسان یافت شد. ولی هنوز عملکرد آن شناسایی نشده است (46).

MMP-23 که در بافتهای جنسی بیان می‌شود و از نظر ساختمانی تفاوتهایی با سایر MMPها دارد که عبارتند از نداشتن دمین هومئوپکسین و موتیف سیستئنی است (47).

MMP-28 یا اپیلیزین[18] که اخیرا به این خانواده اضافه شده است عمدتا در کراتینوسیتها بیان می‌شود (48و49). به نظر می‌رسد در هموستاز و ترمیم پوست نقش داشته باشد.

---

[17] **Amelogenin**

[18] **epilysin**

اسامی لیست شده در جدول زیر ماتریکسین های رایج در مهره داران را نشان می دهد

Proteins	MMPs	Domain Composition
COLLAGENASE 1	MMP-1	B
GELATINAS A	MMP-2	C
STROMELYSIN 1	MMP-3	B
MATRILYSIN	MMP-7	A
COLLAGENASE 2	MMP-8	B
GELATINAS B	MMP-9	D
STROMELYSIN 2	MMP-10	B
STROMELYSIN 3	MMP-11	E
MACROPHAGE ELASTASE	MMP-12	B
COLLAGENASE 3	MMP-13	B
MT 1 – MMP	MMP-14	F
MT 2 – MMP	MMP-15	F
MT 3 – MMP	MMP-16	F
MT 4 –MMP	MMP-17	F
COLLAGENASE-4(xenopus)	MMP-18	B
NO TRIVIAL NAME	MMP-19	B
ENAMELYSIN	MMP-20	B
XMMP (xenopus)	MMP-21	C
CMMPC	MMP-22	B
NO TRIVIAL NAME	MMP-23	H

جدول 1

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران
IRANDOC
مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

دمین های ساختاری ماتریکس متالوپروتئینازها:

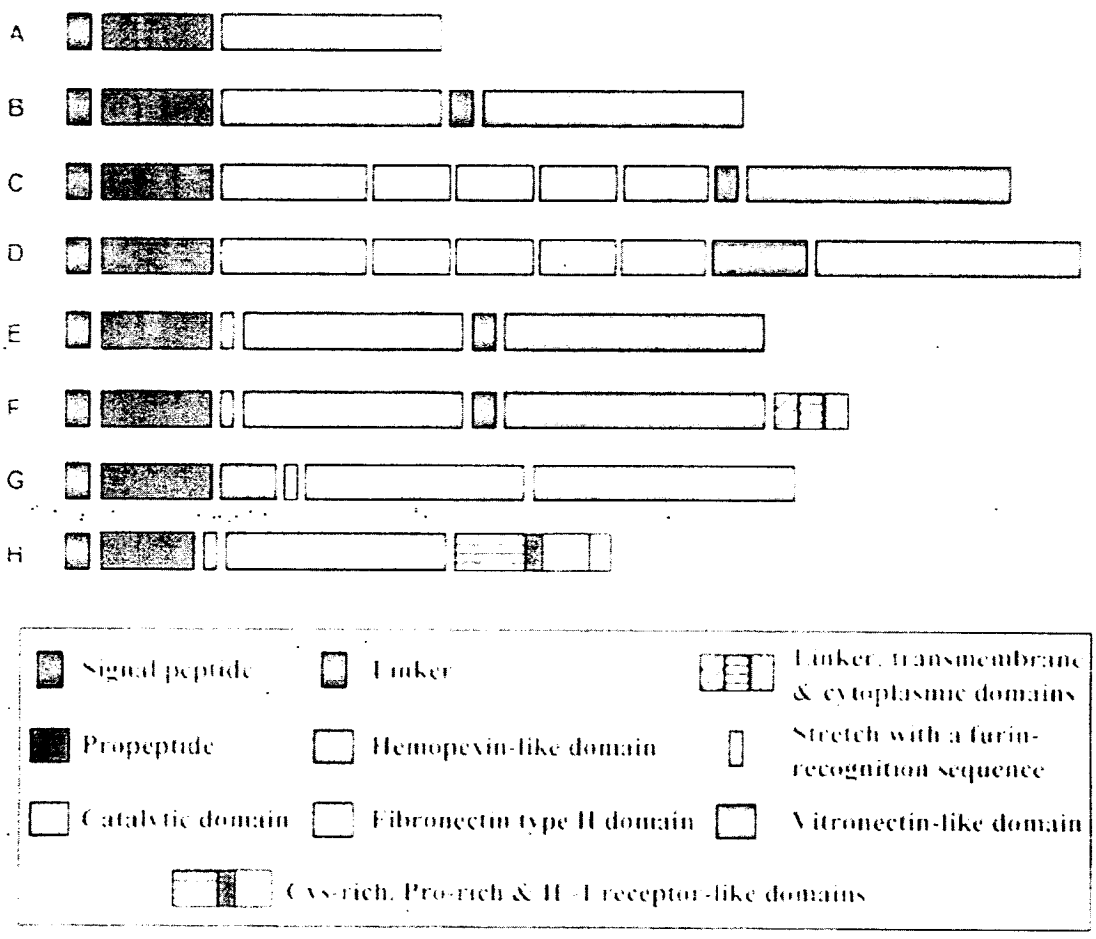
1) پپتید نشانه که MMP ها را به ترشح یا نفوذ در غشاء پلاسمایی هدایت می کند.

2) پرو دمین که باعث غیر فعال شدن آنزیم ها از طریق اشغال جایگاه فعال می شود بنابراین باعث می شودکه سوبسترا به جایگاه فعال آنزیم دسترسی نداشته و آنزیم در فرم غیر فعال باقی بماند.

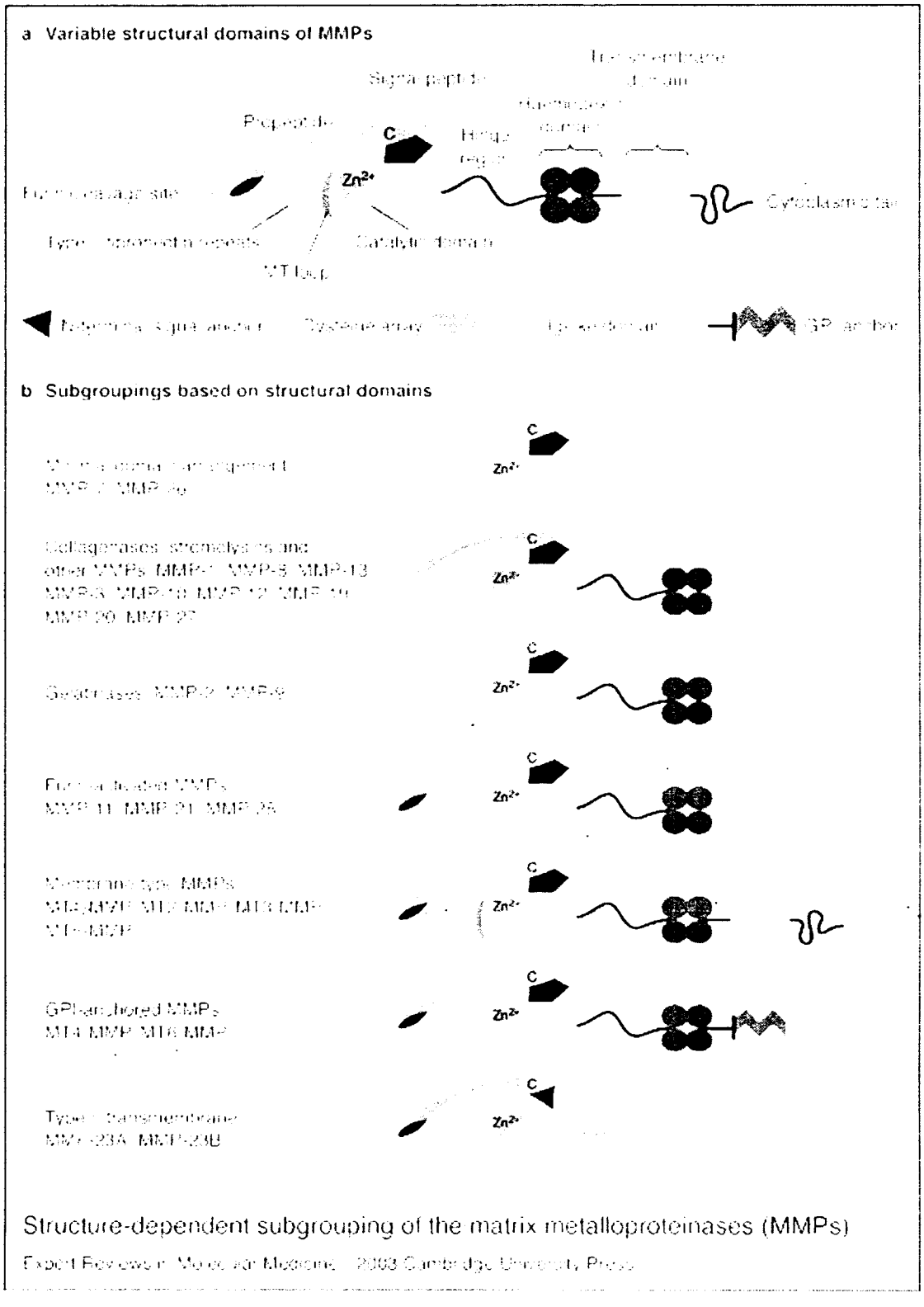
3) دمین کاتالیتکی شامل اتم روی

4) دمین هموپکسین که بر هم کنش ها را با سوبترها وساطت می کند و تعیین کننده اختصاصات آنزیم است.

5) منطقه لولا که جایگاه کاتالیکی و دمین هموپکسین را به هم وصل می کند.



شکل(1-1)



Structure-dependent subgrouping of the matrix metalloproteinases (MMPs)

Expert Reviews in Molecular Medicine, 2003 Cambridge University Press

شكل (2-1)

موتیف های حفظ شده در ساختار ماتریکسین‌ها:

دو موتیف در ساختار پروتئین MMP ها حفظ شده اند :1. موتیف HEXGHXXGXXH در دمین کاتالیتیکی همه MMP ها پیدا شده است که شامل سه اسید امینه هیستیدین میباشد که با یون Zn^{2} در مرکز جایگاه فعال پیونددارند 2. موتیف دیگر PRCGXPD که در بخش انتهائی C (C-ter)از پرودمین MMP ها قرار گرفته است. پیوند اسید امینه سیستئین در این جایگاه با اتم ZN^{2-} در مرکز جایگاه فعال، حالت غیرفعال را به آنزیم القاء می کند در نتیجه باعث حفظ آنزیم در ساختار پرو می شود و از فعال شدن آنزیم جلوگیری می کند.

فعالیت MMP ها در محیط invivo در چندین سطح تحت کنترل می شود:

1. در سطح رونویسی: این آنزیم ها به طور کلی در مقادیر خیلی کم بیان می شوند و رونویسی از ژن آنها بطور وسیعی هم به طور مثبت و هم به طور منفی بوسیله سیتوکاین هائی از قبیل اینترکولین های (IL-1,IL-4,IL-6) و فاکتورهای رشد تغیر شکل دهنده از قبیل (EGF,HGF,TGF-β) و فاکتور نکروز تومور آلفا (TNF -α) تنظیم می شوند. بعضی از این مولکولهای تنظیم کننده می توانند به طور پروتئولیتیکی فعال شوند یا بوسیله MMP ها فعال شوند(اثرفیدبکی).

2.تنظیم پس از رونویسی : فعالیت MMP ها بوسیله حالت غیر فعال به سبب پروپتید قرار گرفته در انتهایN-TER (پروآنزیم جدید سنتزشده) محدود می شود. فعالسازی MMP ها به دنبال ترشح از سلول ها به بر هم کنش پرودمین آنها با جایگاه کاتالیکی وابسته است که ممکن است این امر بوسیله تغییرات ساختاری یا حذف پروتئولیتیکی پرودمین اتفاق بیافتد.MMP های که شامل دمین های شبیه فورین (FURIN –LIKE)

در پروپپتید شان هستند (MMP-28 , MMP-11 MT-MMP) می توانند در قسمت ترانس دستگاه گلژی بوسیله آنزیم های خانواده SUBTILISIN از سرین پروتئازها فعال شوند.

به استثنای MMP-2 مکانیسم فعال سازی MMP های ترشح شده در محیط Invivio هنوز بخوبی شناسایی نشده است.MMP-14 یک نقش موثر در فعال سازی PRO-MMP-2 بر روی سطح سلول بازی می کند. فعال سازی پروتئولیتکی خارج سلولی MMP ها ی ترشح شده می تواند به توسط سرین پروتینازها انجام شود که وابستگی درونی این دو گروه آنزیمی در بازسازی غشاء را نشان می دهند.

بعضی از MMP های فعال می توانند پرو MMP های دیگر را فعال کنند بعنوان مثال میتوان به فعال سازی MMP-3 توسط MMP-9 و MMP-1 اشاره کرد.MMP ها بیشتر توسط مهار کننده های آندوژنی وآندوسیتوز انتخابی تنظیم می شوند.

آندوسیتوز MMP-9 , MMP-13 از طریق یک مکانیسم پذیرنده لیپوپروتئین با چگالی پائین (LDL) مرتبط با پروتئین اثبات شده است.

به دنبال ترشح از سلول .MMP-9 قادر است به سطح سلول متصل شود که این سطح تا حدودی از مهار کننده های محلی محافظت شده است.

مکانیسم کاتالیتیک:

سه مکانیسم کاتالیتیکی برای MMP ها فرض شده است:

1- مکانیسم کاتالیتیکی که بوسیله باقی مانده Glu محافظت شده و یون Zn^{2+} اجرا می شود که این مکانیسم به مکانیسم اول یا Browner MF and colleagen معروف است.