

Revista Română de MEDICINĂ DENTARĂ

Volumul XIV - Nr. 2/2011

Din cuprins:

- Studiu clinic asupra evaluării metodelor de management al bolii parodontale
- Interacțiuni medicamentoase - importanța cunoașterii lor în practica stomatologică
- Ergonomie, Prevenție și Management performant în Medicina Dentară prin aliniere la standardele europene
- Metaloproteazele matriceale (cu accent pe colagenaze)
- Biocompatibilitatea dioxidului de zirconiu



Revista Română de **MEDICINĂ DENTARĂ**

Volumul XIV, Nr. 2, 2011

Revistă editată de



Uniunea Națională a
Asociațiilor Stomatologice
str. Mitropolit Filaret, nr. 24,
sector 4, București
tel./fax: 021 3356187
021 3370040
e-mail: office@unas.ro
www.unas.ro

ISSN 1841 - 6942

COMITET EDITORIAL

Director publicație: dr. Alexandru Brezoescu
Redactor-șef: prof. dr. Teodor Trăistaru
Redactor-șef adjunct: dr. Dan Căminescu
Editori Științifici: prof. dr. Rodica Luca
conf. dr. Anca Silvia Dumitriu
Editor coordonator: Dorina Pîrău

Colegiul Științific

Prof. Dr. Grigore Băciuț
Prof. Dr. Alexandru Bucur
Prof. Dr. Vasile Burlui
Prof. Dr. Virgil Cârțigeriu
Prof. Dr. Ioan Dănilă
Prof. Dr. Horia Traian Dumitriu
Prof. Dr. Norina Forna
Prof. Dr. Prof. Dr. Andrei Iliescu
Prof. Dr. Rodica Luca
Prof. Dr. Silvia Mârțu
Prof. Dr. Traian Augustin Mihai
Prof. Dr. Ion Pătrașcu
Prof. Dr. Mihaela Rodica Păuna
Prof. Dr. Angela Podariu
Acad. Prof. Dr. Costantin Popa
Prof. Dr. Sorin Popșor
Conf. Dr. Alexandru Rafila
Prof. Dr. Dragoș Stanciu
Prof. Dr. Mihai Surpățeanu
Prof. Dr. Teodor Trăistaru
Prof. Dr. Șerban Petru Radu Țovaru
Prof. Dr. Argiris L. Pissiotis - Grecia
Prof. Dr. Dragoslav Dukanović - Serbia
Prof. Dr. Kaufmann-Israel
Prof. Dr. Mihnea Strugurescu Canada
Prof. Dr. Ady Garfunkel - Israel
Prof. Simone Grandini - Italia
Prof. Univ., Dr. hab. în med. Ion Lupan - Rep. Moldova
Prof. Dr. Betul Kargul - Turcia
Conf. Dr. Dana Cristina Bodnar

Membri

Conf. Dr. Monica Bănița
Prof. Dr. Mihaela Băciuț
Prof. Dr. Victor Boboc
Conf. Dr. Cristina Bodnar
Prof. Dr. Emanoil Bratu
Dr. Alexandru Brezoescu
Dr. Mircea Carabela
Prof. Dr. Radu Cîmpian
Prof. Dr. Valeriu Cherlea
Prof. Dr. Bogdan Dumitriu
Prof. Dr. Anca Dumitriu
Conf. Dr. Ileana Ionescu

Prof. Dr. Viorica Maria Milicescu
Șef Lucr. Radu Anton Marinescu
Conf. Dr. Dan Mariș
Conf. Dr. Mariana Păcurar
Conf. Dr. Gabriela Pătroi
Prof. Dr. Angela Pop
Prof. Dr. Brândușa Popa
Prof. Dr. Victor Nimigean
Conf. Dr. Vanda Nimigean
Prof. Dr. Dan Slăvescu
Prof. Dr. Ioan Sîrbu
Prof. Dr. Alin Șerbănescu
Șef Lucr. Dr. Elina Teodorescu
Prof. Dr. Constantin Vârlan
Conf. Dr. Alexandra Roman-Cluj
Șef Lucr. Dr. Liliana Burlibașa
Șef Lucr. Dr. Stîngu Ionescu

Secretariatul Colegiului Științific

Prof. Dr. Alexandru Eugen Petre
Conf. Dr. Mihai Burlibașa
Dr. Alexandru Mircea Nicolau
Dr. Ștefăniță Cătălin Sasu
Stud. Alina Dragomir
Stud. Alexandra Ivășchescu
Stud. Monica Predoiu

Reprezentanți regionali

Dr. Dumitru Angheliescu
Dr. Mioara Bălan
Dr. Ines Budan
Dr. Claudia Ciupitu
Dr. Ioan Costea
Dr. Gheorghe Cotaie
Dr. Cătălina Maria Crișan
Dr. Marius Dediu
Dr. Alina Burz Diculescu
Dr. Ștefan Fischer
Dr. Paul Frangopol
Dr. Vasile Ghioca
Dr. Florian Iacob
Dr. Marius Dinu
Dr. Manuela Urigiuc
Dr. Carmen Marcu



GRUPUL EDITORIAL
NATIONAL

Director general: Dan Chiriac
Redactor-șef: Violeta Borzea

Str. Frunzișului nr. 9-11, sector 4, București

Tel.: 021 3324777; fax: 021-3324870;
mobil 0744-751066,
e-mail: office@edituranational.ro

CUPRINS

Editorial

Editorial	85
Teodor Trăistaru	

Studiu clinic asupra evaluării metodelor de management al bolii parodontale	
Clinical study on evaluation methods for management of periodontal disease	87
Lucian Victor Floarea, Floarea Lucian, Horia Traian Dumitriu	

Interacțiuni medicamentoase - importanța cunoașterii lor în practica stomatologică	
Drug interaction - the importance of their knowledge for dental practice	100
Iosefina Corciovei Constantinescu, Stanciu Liliana	

Ergonomie, Prevenție și Management performant în Medicina Dentară prin aliniere la standardele europene	
Ergonomics, Prevention and Performant Management in Dental Medicine by adopting European Standards	117
Ana Petre, Emilena Naicu, Anca Axante, Vlad Naicu	

Metaloproteazele matriceale (cu accent pe colagenaze)	
Matrix metalloproteinases	
(with accent to collagenases)	127
Evrosimovska Biljana, Dimova Cena, Velickovski Boris, Papakoca Kiro	

Biocompatibilitatea dioxidului de zirconiu	
Biocompatibility of zirconium dioxide	141
Sanda Mihaela Popescu, Florin-Dan Popescu	

Metaloproteazele matriceale (cu accent pe colagenaze)

Matrix metalloproteinases (with accent to collagenases)

Evrosimovska Biljana*, Dimova Cena**, Velickovski Boris *, Papakoca Kiro**

Rezumat

Metaloproteazele matriceale (cu accent pe colagenaze)

Metaloproteazele matriceale (MPM) reprezintă un grup major de enzime ce regleză compoziția matricei celulare. MPM sunt endopeptidaze zinc-dependente, cunoscute pentru abilitatea lor de a clava unul sau mai mulți constituenți ai matricei extracelulare, ca și proteine nonmatriceale.

Această prezentare s-a focalizat pe elementele structurale și funcționale ale MPM-urilor, ca și pe rolul lor în procesele fiziologice sau patologice în care se crede că MPM-urile joacă un rol important, dacă nu chiar indispensabil.

În concordanță cu caracteristicile lor structurale și funcționale, familia MPM-urilor a fost clasificată în șase subgrupe diferite, dar înrudite, în care adesea specificațiile substatalului se suprapun.

Sinteza MPM-urilor și funcțiile lor sunt reglate de activarea transcripțională, procesele posttranscripționale (eliberarea pro-domeniului, chitirea suprafeței celulare), și controlul activității de către o familie de inhibitori endogeni cunoscuți sub numele de inhibitori tisulari ai metaloproteazelor (ITMP). Balanța dintre MPM-uri și ITMP este cea care stabilește turnover-ul matricial, unde un exces al MPM-urilor sau un deficit de ITMP poate duce la o degradare în exces a matricei extracelulare (MEC).

În plus, sintezele recente ale inhibitorilor selectivi și non-selectivi ai MPM-urilor ar putea ajuta la o mai bună înțelegere a relației dintre activarea celulelor inflamatorii și remodelarea tisulară și propune noi posibilități terapeutice ale bolii inflamatorii.

Cuvinte cheie: matricea extracelulară, metaloproteazele matriceale, inflamație

*PHO University dental Clinical Centre "Sveti Pantelejmon", - Skopje, "Ss. Cyril and Methodius University", Faculty of Dentistry, Clinic for Oral Surgery,

**University "Goce Delcev" - Stip Faculty of Medical Sciences, Study for General Stomatology, Macedonia

Abstract

Matrix metalloproteinases (with accent to collagenases)

Matrix metalloproteinases (MMPs) are a major group of enzymes that regulate cell–matrix composition. The MMPs are zinc-dependent endopeptidases known for their ability to cleave one or several (extracellular matrix) ECM constituents, as well as nonmatrix proteins.

This review was focused on structural and functional elements of MMPs, and their role in physiological and pathological processes in which it is believed the MMPs play an important, or even indispensable role.

According to their structural and functional characteristics, MMPs family members have been classified into six different but closely related subgroups with fairly characteristic but often overlapping substrate specificities.

MMP synthesis and functions are regulated by transcriptional activation, post-transcriptional processing (release of pro-domain, cell surface shedding), and control of activity by a family of endogenous inhibitors collectively known as tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs). The balance of MMPs to TIMPs therefore determines matrix turnover, where either an excess of MMPs or a deficit of TIMPs may result in excess ECM degradation.

Moreover, the recent development of selective and non-selective inhibitors of MMPs would also provide new insights in the knowledge of the relationship between activation of inflammatory cells and tissue remodeling and propose new therapeutic possibilities to the treatment of inflammatory disease.

Key words: *extracellular matrix, matrix metalloproteinases, inflammation*

Modularea interacțiunilor matricei celulare se realizează printr-un sistem proteolitic unic responsabil de hidroliza unei varietăți de componente ale matricei extracelulare (MEC). Prin reglarea integrității și compoziției structurii MEC, aceste enzime joacă un rol crucial în controlul semnalelor elaborate de moleculele matriceale, ce reglează proliferarea celulară, diferențierea și moartea celulară.

Turnover-ul și remodelarea MEC trebuie să fie strict controlată deoarece o proteoliză necontrolată contribuie la o dezvoltare anormală precum și la generarea unor multitudini de condiții patologice caracterizate de o degradare excesivă sau de lipsa degradării componentelor MEC.

Metaloproteazele matriceale (MPM) reprezintă un grup major de enzime ce reglează compoziția matricei celulare. MPM-urile sunt endopeptidaze zinc-dependente cunoscute pentru abilitatea lor de a scinda unul sau mai mulți constituenți ai MEC, precum și proteine nonmatriceale. Ei reprezintă o mare familie de proteaze ce împart elemente structurale și funcționale comune, fiind produse de gene diferite.

Modulation of cell–matrix interactions occurs through the action of unique proteolytic systems responsible for hydrolysis of a variety of extracellular matrix (ECM) components. By regulating the integrity and composition of the ECM structure, these enzyme systems play a pivotal role in the control of signals elicited by matrix molecules, which regulate cell proliferation, differentiation, and cell death.

The turnover and remodeling of ECM must be highly regulated since uncontrolled proteolysis contributes to abnormal development and to the generation of many pathological conditions characterized by either excessive degradation or a lack of degradation of ECM components.

Matrix metalloproteinases (MMPs) are a major group of enzymes that regulate cell–matrix composition. The MMPs are zinc-dependent endopeptidases known for their ability to cleave one or several ECM constituents, as well as nonmatrix proteins. They comprise a large family of proteases that share common structural and functional elements and are products of different genes.

Prima comunicare despre o enzimă a unei vertebrate (în opoziție cu bacteriile) ce a fost capabilă de a ataca tripla spirală a colagenului de tip I a fost realizată în 1962 de către Jerome Gross și Charles Lapiere. În acest raport, ei au demonstrat faptul că activitatea enzimei, secretată de fragmente tisulare din cultură ale pielii de pe brațele și coada aflate în rezorbție ale unui mormoloc, o colagenază ce acționa asupra colagenului la 27°C, la pH neutru.¹

Motivul interesului în MPM este expus în Tabelul 1, ce arată unele aspecte ale implicării MPM-urilor în cadrul proceselor biologice normale și patologice.

Structura domeniului și funcția

Dacă se examinează MPM-urile cu plecare de la capătul N-terminal, se pot observa următoarele: peptida de semnal, propeptida, situsul de scindare furinic, domeniul catalitic, repetițiile fibronectin-like, regiunea balama, domeniul hemopexin, și extensia de inserție a membranei (Fig 1.).³

The first report of an enzyme from vertebrate (as opposed to bacterial) sources that was capable of attacking the triple helix of native type I collagen was published in 1962 by Jerome Gross and Charles Lapiere. In this report they demonstrated that the enzyme activity, secreted by cultured tissue fragments of tail fin skin from resorbing tadpole tails in metamorphosis, was true collagenase acting on collagen at 27°C at neutral pH.¹

The reason for this interest on MMPs is pointed out most clearly by Table 1, which shows some of the points of involvement of the MMPs in normal biologic and pathologic processes.

Domain Structure and Function

If one examines the MMPs starting from the N terminus, the following features are seen: signal peptide, propeptide, furin-cleavage site insert, catalytic domain, fibronectin-like repeats, hinge region, hemopexin domain, and membrane insertion extension (Fig 1.).³

Tabelul 1. Implicarea MPM-urilor în cadrul proceselor normale și patologice.
(Adaptate după Parks W. C., Mecham R. P. (1998) Matrix metalloproteinases. Academic Press Limited, UK²)

PROCESELE NORMALE ȘI PATOLOGICE ÎN CARE SUNT IMPLICATE MPM-urile					
Normal			Patologic		
Dezvoltare	Reproducere	Mentineră	Distrucție tisulară	Boli fibrotice	Slăbirea matricei
Implantarea blastocitului	Ciclul endometrial	Remodelarea osoasă	Artroză reumatoidă	Ciroza ficatului	Cardiomiopatie cu dilatație
Dezvoltarea embrionului	Ruptura foliculului de Graaf	Ciclului foliculului pilos	ostoartrită	Boala plămânului fibrotic	Epidermoliză buloasă
Creșterea nervilor	Luteoliză	Vindecarea rănilor	Invasia canceroasă	Otoscleroză	Anevrism aortic
Îndepărtarea cartilajelor de creștere	Dilatația cervicală	Angiogeneză	Metastazele canceroase	arteroscleroză	
Creștere scheletală, osoasă	Involuția uterină postpartum	Apoptoză	Ulcer de decubit	Scleoză multiplă	
Creșterea nervilor	Morfogeneza glandelor mamare	Regenerare nervoasă	Ulcer gastric		
Maturarea smalțului	Involuția glandelor mamare	Funcția macrofagelor	Ulceratiție corneană		
Resorbția dentară primară	Ruptura membranei fetale	Funcția neutrofilelor	Boală parodontală		

Table 1. Involvement of the MMPs in normal and pathological processes.
(Accepted from Parks W. C., Mecham R. P. (1998) Matrix metalloproteinases. Academic Press Limited, UK²)

NORMAL AND PATHOLOGICAL PROCESSES IN WHICH MMPs ARE IMPLICATED					
Normal			Pathological		
Development	Reproduction	Maintenance	Tissue Destruction	Fibrotic Diseases	Weakening of Matrix
Blastocyst implantation	Endometrial cycling	Remodeling of bone	Rheumatoid arthritis	Liver cirrhosis	Dilated cardiomyopathy
Embryonic development	Graafian follicle rupture	Hair follicle cycle	Osteoarthritis	Fibrotic lung disease	Epidemolysis bullosa
Nerve growth	Luteolysis	Wound healing	Cancer invasion	Otosclerosis	Aortic aneurysm
Growth plate cartilage removal	Cervical dilatation	Angiogenesis	Cancer metastasis	Atherosclerosis	
Skeletal, bone growth	Postpartum uterine involution	Apoptosis	Decubitus ulcer	Multiple sclerosis	
Nerve outgrowth	Mammary gland morphogenesis	Nerve regeneration	Gastric ulcer		
Enamel maturation	Mammary gland involution	Macrophage function	Corneal ulceration		
Primary tooth resorption	Rupture of fetal membranes	Neutrophil function	Periodontal disease		

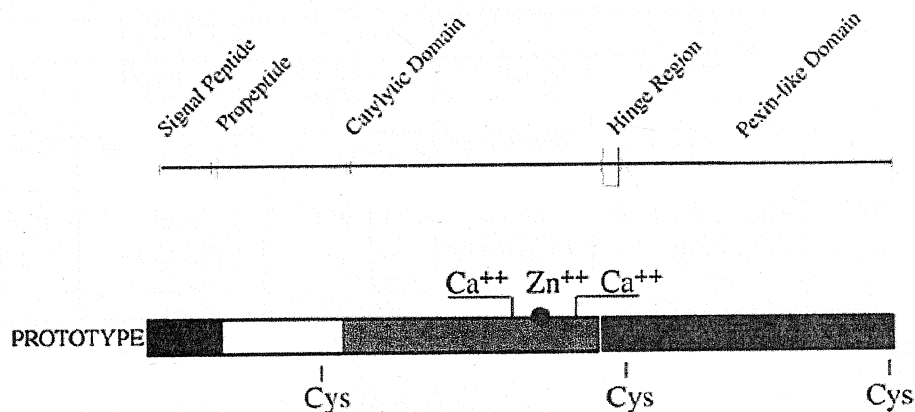


Figura 1. Reprezentarea unui prototip de MPM. Toate colagenazele interstițiale conțin variații ale domeniului indicat în această reprezentare.

(Adaptat după Birkedal-Hansen H., Moore W.G.I., Bodeen M.K., et al. (1993) Matrix metalloproteinases: A review. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 4,197-250. ⁴)

Figure 1. Representation of a prototype matrix metalloproteinase. All the interstitial collagenases contain variations of the domains indicated in this representation. (Adapted from Birkedal-Hansen H., Moore W.G.I., Bodeen M.K., et al. (1993) Matrix metalloproteinases: A review. Crit. Rev. Oral Biol. Med. 4,197-250. ⁴)

Peptida singulară este de obicei o secțiune de 17-20 reziduuri, bogate în aminoacizi hidrofobi, ce servesc ca un semnal pentru secreția în reticulul endoplasmatic pentru eventualul export celular.

Single peptide is typically a stretch of 17-20 residues, rich in hydrophobic amino acids, that serves as a signal for secretion into the endoplasmic reticulum for eventual export from the cell.

Domeniul propeptidic constă în aprox. 80-90 de aminoacizi ce conțin un reziduu cisteinic, ce interacționează cu atomul catalitic de zinc prin intermediul grupului thiolic al lanțului secundar. O secvență foarte bine conservată (. . .PRCGXPD. . .) este prezentă în propeptid. Îndepărtarea propeptidului prin proteoliză are ca rezultat activarea zimogenului, deoarece toți membrii familiei MPM sunt produși într-o formă latentă. Cisteina din această secvență ("întrerupătorul cisteinic") leagă zincul catalitic pentru a menține o latență a pro-MPM-ului.⁵ Această cisteină se găsește în toate MPM-urile, inclusiv în acelea care prezintă situsul de scindare furinic.

Situsul de inserție al scindorului furinic. Acesta se întinde pe aproximativ 9 reziduuri incluzând secvența RXKR/RRKR ce duce la clivajul extracelular al furinului. MPM-11, -14, -15, -16, și -17 posedă această secvență. În enzimele restante, clavarea prin proteaze externe se desfășoară la mijlocul propeptidei expunând parțial zincul și conducând la clivajul autolitic al restului propeptidei. Situsul exact al clivajului final poate varia în cazul unei singure enzime, conducând la diferite grade de activare, în special în cazul MPM-1.

Domeniul catalitic (aproximativ 170 de aminoacizi) conține doi ioni de zinc și cel puțin un ion de calciu subordonat la reziduuri diferite. Unul din cei doi ioni de zinc este prezent în situsul de activare și este implicat în procesul catalitic al MPM-urilor. Ionul de zinc catalitic este esențial pentru activitatea proteolitică al MPM-urilor; cele trei resturi de histidină ce funcționează cu zincul catalitic sunt conservate în toate MPM-urile. Cele 50-54 de resturi de la capătul C-terminal al domeniului catalitic includ situsul de legare al zincului catalitic. Se cunosc puține despre rolurile celui de al doilea ion de zinc și al calciului din interiorul domeniului catalitic, dar MPM-urile prezintă o mare afinitate pentru ionii structurali de zinc și calciu.⁶

Repetările Fibronectin-Like. Aceste structuri specializate ajută la legarea enzimei la substraturile gelatinei și ale colagenului.⁷

Regiunea balama. Domeniul catalitic este conectat la următorul domeniu hemopexinic de o regiune de legătură ce poartă adesea denumirea de regiune balama. Poate avea între 0 și 75 de resturi. Cea mai lungă balama se găsește la MPM-9 și se aseamănă

The propeptide domain consists of approximately 80–90 amino acids containing a cysteine residue, which interacts with the catalytic zinc atom via its side chain thiol group. A highly conserved sequence (. . .PRCGXPD. . .) is present in the propeptide. Removal of the propeptide by proteolysis results in zymogen activation, as all members of the MMPs family are produced in a latent form. The Cys within this sequence (the "cysteine switch") ligates the catalytic zinc to maintain the latency of pro-MMPs.⁵ This cysteine is found in all MMPs, including those that have the furin-cleavage site.

Furin-cleavage site insert. This stretch of about nine residues includes the consensus sequence of RXKR/RRKR that leads to intracellular cleavage by furin. MMP-11, -14, -15, -16, and -17 possess this sequence. In the remaining enzymes, a cleavage by external proteases occurs in the middle of the propeptide, partially exposing the zinc and leading to autolytic cleavage of the remainder of the propeptide. The exact site of final cleavage may vary within a given enzyme leading to different degrees of activation, particularly in the case of MMP-1.

The catalytic domain (about 170 amino acids) contains two zinc ions and at least one calcium ion coordinated to various residues. One of the two zinc ions is present in the active site and is involved in the catalytic processes of the MMPs. The catalytic zinc ion is essential for the proteolytic activity of MMPs; the three histidine residues that coordinate with the catalytic zinc are conserved among all the MMPs. The 50-54 residues at the C-terminal end of the catalytic domain include the site of binding of the catalytic zinc. Little is known about the roles of the second zinc ion and the calcium ion within the catalytic domain, but the MMPs are shown to possess high affinities for structural zinc and calcium ions.⁶

Fibronectin-Like Repeats. These specialized structures aid the binding of enzyme to gelatin and collagen substrates.⁷

Hinge Region. The catalytic domain is connected to the following hemopexin domain by a linker region usually referred to as the hinge region. It ranges in length from 0 to 75 residues. The longest hinge is found in MMP-9 and shows considerable

foarte mult cu colagenul de tip V prin faptul că este bogată în prolină. O balama clasică conține aproximativ 16 reziduuri, inclusiv un număr mare de reziduuri prolinice.⁸

Domeniul hemopexin-like (aproximativ 210 aminoacizi) este foarte conservativ și prezintă o secvență similară cu proteina plasmatică hemopexin. Domeniul hemopexin-like joacă un rol funcțional în legarea la substrat și/sau interacțiunea cu inhibitorii tisulari ai metaloproteinazelor, o familie de inhibitori proteici specifici MPM-urilor⁹. Domeniul hemopexinic este absolut indispensabil colagenazelor în clavarea triplei spirale a colagenului interstițial¹⁰, deși domeniul catalitic poate prezenta singur activitate proteolitică asupra altor substraturi.

Extensia de inserție membranară. Deși majoritatea MPM-urilor prezintă capătul C-terminal la sfârșitul domeniului hemopexinic, cele patru MT-MPM prezintă o extensie suplimentară ce guvernează inserția acestor proteaze la membrana celulară. Lungimea acestora variază de la 80 la 110 resturi.

Clasificarea MPM-urilor

În prezent au fost identificate 24 de MPM-uri diferite ale vertebratelor, din care 23 au fost identificate la oameni.¹¹

Conform caracteristicilor lor structurale și funcționale, membrii familiei MPM au fost clasificați în șase subgrupe diferite, totuși înrudite, cu specificități pentru substraturi ce adesea se suprapun. Această clasificare ia în calcul colagenazele (MPM-1, 8, 13 și 18), gelatinaze (MPM-2 și 9), stromalizine (MPM-3, 10 și 11), elastaze (MPM-7 și 12) și MPM-uri de membrană (MT-MPM-uri, MPM-14, 15, 16 și 17), precum și alți membri nedenumiți.⁴

În afara unei structuri 3-D comune³, MPM-urile împart un aranjament similar genic, sugerând faptul că se trag din duplicarea unei gene strămoș comune. Cel puțin opt din genele umane cunoscute ale MPM-urilor (MPM-1, 3, 7, 8, 10, 12, 13 și 20) se găsesc pe cromozomul 11 la 11q21-23. Alte gene MPM sunt împrăștiate pe cromozomii 1, 8, 12, 14, 16, 20 și 22.¹²

O scurtă trecere în revistă a colagenazelor interstițiale individuale

Domeniul chimic și biologic al colagenazelor

homology to type V collagen in that it is rich in proline. A typical hinge contains about 16 residues including a number of proline residues.⁸

The hemopexin-like domain (about 210 amino acid) of MMPs is highly conserved and shows sequence similarity to the plasma protein, hemopexin. The hemopexin-like domain has been shown to play a functional role in substrate binding and/or in interactions with the tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs), a family of specific MMP protein inhibitors.⁹ The hemopexin domain is an absolute requirement for collagenases to cleave triple helical interstitial collagens¹⁰, although the catalytic domains alone retain proteolytic activity toward other substrates.

Membrane Insertion Extension. Although most MMPs have their C terminus at the end of the hemopexin domain, the four MT-MMPs have a further extension that governs insertion of these proteases into the cell membrane. Its length ranges from about 80 to 110 residues.

Classification of MMPs

To date, 24 different vertebrate MMPs have been identified of which 23 are found in humans.¹¹

According to their structural and functional characteristics, MMPs family members have been classified into six different but closely related subgroups with fairly characteristic but often overlapping substrate specificities. This classification considers collagenases (MMP-1, 8, 13 and 18), gelatinases (MMP-2 and 9), stromelysins (MMP-3, 10, 11), elastases (MMP-7 and 12), and membrane type MMPs (MT-MMPs, MMP-14, 15, 16 and 17) and a group of unnamed members.⁴

In addition to a remarkably common 3-D structure³, MMPs share a similar gene arrangement, suggesting that they arose by duplications of an ancestor gene. At least eight of the known human MMPs genes (MMP-1, -3, -7, -8, -10, -12, -13 and -20) are clustered on chromosome 11 at 11q21-23. Other MMP genes are scattered among chromosomes 1, 8, 12, 14, 16, 20, and 22.¹²

A brief overview of the individual interstitial collagenases

The area of interstitial collagenase chemistry and

interstițiale, în paralel cu acela al metaloproteazelor matrieciale în general, a cunoscut o dezvoltare explozivă. Colagenaza-1 (MPM-1), colagenaza-2 (MPM-8) și colagenaza-3 (MPM-13) reprezintă subfamilia colagenazei capabilă de a iniția degradarea colagenului nativ fibrilar tip I, II, III, V și IX.¹³ Colagenazele pot deasemenea digera un număr de molecule MEC și non MEC.

Colagenazele diferă prin specificitățile de substrat și rolurile funcționale.^{38, 30} MPM-1 degradează colagenul tip III, MPM-8 preferă colagenul tip I și MPM-13 colagenul II.^{4,13}

MPM-1 este exprimat în fibroblaști, celule endoteliale, macrofage, hepatocite, condrocite, osteoblaști, celule tumorale și keratinocite epidermale migratorii, iar expresia sa poate fi indusă în anumite boli inflamatorii și cancere.¹⁴ Gena MPM-1 este localizată pe cromozomul 11q22.¹⁵ Este exprimată la un nivel slab în condiții obișnuite, totuși, expresia sa poate crește semnificativ în condiții patologice.

MPM-8 a fost pentru prima dată clonată din ARN mesager, extras din leucocitele periferice ale unui pacient cu leucemie cronică cu granulocite.¹⁶ MPM-8 este sintetizat în leucocitele polimorfonucleare în timpul maturării în măduva osoasă, și stocat în granule intracelulare specifice, din care este secretat în mediul cextracelular ca și răspuns la stimuli trigger externi, enzima jucând astfel un rol cheie în distrucția celulară din timpul bolilor inflamatorii.¹⁷ MPM-8 poate fi deasemenea detectată în mucoasa fibroblaștilor, condrocitelor, odontoblaștilor, monocitelor-macrofagelor, celulelor canceroase, celulelor leucemice, celulelor maligne plasmatică și celulelor endoteliale umane.^{18,19,20} Specia majoră de colagenaze detectată în inflamațiile parodontale este MPM-8.²¹

MPM-8 este exprimat în vivo de către celulele bronhice epiteliale și de către macrofagele implicate în bronchiectazie, condrocitele din artrita reumatoidă și leziunile osteoartrite, fibroblaștii sinoviali reumatoizi, în celulele umane epiteliale din șanțul gingival, în celulele umane ale ateroamelor, în celulele plasmatică asociate keratozei orale, și în celulele în proliferare ale țesutului migrator cicatricial, în fibroliza dermală și în celulele inflamatorii.²² In vitro, MPM-8 este eliberat de către leucocite în timpul stimulării chemotactice, in vivo, ca răspuns la condițiile inflamatorii locale.²³

biology, in parallel with that of the matrix metalloproteinases in general, has undergone explosive growth. Collagenase-1 (MMP-1), collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) comprise the collagenase subfamily capable of initiating degradation of native fibrillar collagen types I, II, III, V and IX.¹³ Collagenases can also digest a number of other ECM and non-ECM molecules.

The collagenases differ in their substrate specificities and functional roles.^{38, 30} MMP-1 preferably degrades collagen III, MMP-8 prefers type I collagen, and MMP-13 prefers collagen II.^{4,13}

MMP-1 is expressed by fibroblasts, endothelial cells, macrophages, hepatocytes, chondrocytes, osteoblasts, tumors cells and migrating epidermal keratinocytes and its expression can be induced in certain inflammatory diseases and cancers.¹⁴ The MMP-1 gene is localized on chromosome 11q22.¹⁵ It is constitutively expressed at low levels under normal physiological conditions; however, its expression may increase markedly in pathological conditions.

MMP-8 was first cloned from messenger RNA (mRNA) extracted from the peripheral leucocytes of a patient with chronic granulocytic leukemia.¹⁶ MMP-8 is synthesized in polymorphonuclear leukocytes during their maturation in bone marrow and stored in specific intracellular granules, out of which it is secreted to the cell environment in response to external triggering stimuli and the enzyme thus plays a key role in tissue destruction during inflammatory diseases.¹⁷ MMP-8 can also be detected in mucosal fibroblasts, chondrocytes, odontoblasts, monocyte/macrophages, melanoma cells, leukaemia cells, malignant plasma cells and human endothelial cells.^{18,19,20} The major collagenase species detected in inflamed human periodontium is MMP-8.²¹

MMP-8 is expressed in vivo by bronchial epithelial cells and macrophages involved in bronchiectasis, chondrocytes in rheumatoid arthritis and osteoarthritic lesions, rheumatoid synovial fibroblasts, in human gingival sulcular epithelial cells, in cells of human atheroma, in plasma cells associated with oral keratocysts and by cells in proliferating and migratory wound epithelia, in dermal fibroblasts and inflammatory cells.²² In vitro, MMP-8 is released out of leucocytes during the chemotactic stimulation and, in vivo, as reply to local inflammatory conditions.²³

MPM-13 a fost clonat întâi din cADN-ul tumorilor mamare.²⁴ El prezintă cea mai largă gamă de substraturi dintre colagenazele interstițiale și, în plus față de acestea, poate scinda o varietate de componente BM. MPM-13 scindează tipul II de colagen mult mai eficient decât tipurile I și III, iar dintre colagenazele interstițiale, scindează cel mai eficient gelatina.²⁵ Expresia fiziologică a MPM-13 se pare că se limitează la osul în dezvoltare²⁶, vindecarea rănilor și dinți.²⁷ Este exprimat în cantități mari în condiții patologice cum ar fi artrita reumatoidă, osteoartrita, boala parodontală, ulceratii cronice, condrocitele hipertrofice, osteoblaști, precum și în celulele plasmatică și în multe celule carcinomatoase și melanomice.^{28,20,29} Se pare că MPM-13 este implicat în invazia tumorală și în metastazare datorită plajei sale foarte largi de specificitate la substrat împreună cu eficiența catalitică și a expresiei sale regulate în celulele canceroase.³⁰

Reglarea activității MPM-urilor

Activitatea MPM-urilor este reglată la multiple niveluri, incluzând conversia proenzimei în forma activată, inhibiția prin inhibitorii tisulari ai MPM-urilor (ITMP) și reglarea transcripției.

În mod obișnuit există un nivel scăzut de MPM-uri în țesuturile adulților, și cu câteva excepții, producția și activitatea lor este menținută la niveluri practic nedetectabile. Pierderea controlului activității poate degenera în boli.

Astfel, MPM-urile sunt ținute sub control la nivel transcripțional și post-transcripțional, iar expresia lor crește în condițiile în care sistemul este solicitat – cum ar fi vindecarea unei răni, repararea unui proces de remodelare, țesuturi infectate, și chiar în diverse tipuri de celule crescute în culturi.³¹

MPM-urile sunt de asemenea reglate de către activarea precursorilor zimogeni și inhibate de inhibitorii endogeni, inhibitorii tisulari ai metaloproteazelor (ITMP). Activarea extracelulară a majorității MPM-urilor este reglată de o cascadă proteolitică și poate fi inițiată de alte MPM-uri deja activate sau de o mulțime de proteaze serine. ITMP reprezintă principalii inhibitorii naturali ai MPM, astfel ei țin sub control strict activitatea catalitică a metaloproteazelor. Astfel, balanța dintre MPM și ITMP este critică pentru remodelarea MEC.

MMP-13 was originally cloned from human breast tumour cDNA library.²⁴ It has the widest substrate selection among the interstitial collagenases and, in addition to collagens, it is able to cleave various BM components. MMP-13 cleaves type II collagen more efficiently than type I and III, and among interstitial collagenases, it is most effective in cleaving gelatin.²⁵ The physiological expression of MMP-13 seems to be limited only to developing bone²⁶, wound healing and teeth.²⁷ It is widely expressed in pathological conditions including rheumatoid arthritis, osteoarthritis, periodontitis, chronic ulcerations, hypertrophic chondrocytes, osteoblasts as well as plasma cells and many carcinoma and melanoma cells.^{28,20,29} MMP-13 is predicted to have an important role in tumors invasion and metastasis due to its wide substrate-specificity together with catalytic efficiency and its upregulated expression in cancer cells.³⁰

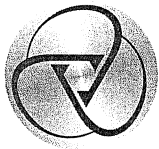
Regulation of activity of MMPs

The activity of MMPs is regulated at multiple levels, including conversion of proenzyme to the activated form, inhibition by tissue inhibitors of MMPs (TIMPs) and regulation of transcription.

MMPs levels are usually low in normal adult tissues, and with some exceptions, their production and activity are maintained at practically undetectable levels. A loss of activity control may result in diseases.

Thus, MMPs are tightly regulated at the transcriptional and post-transcriptional levels and their expression become elevated when there is a challenge to the system, such as wound healing, repair or remodeling processes, in diseased tissues, and even in several cell types grown in culture.³¹

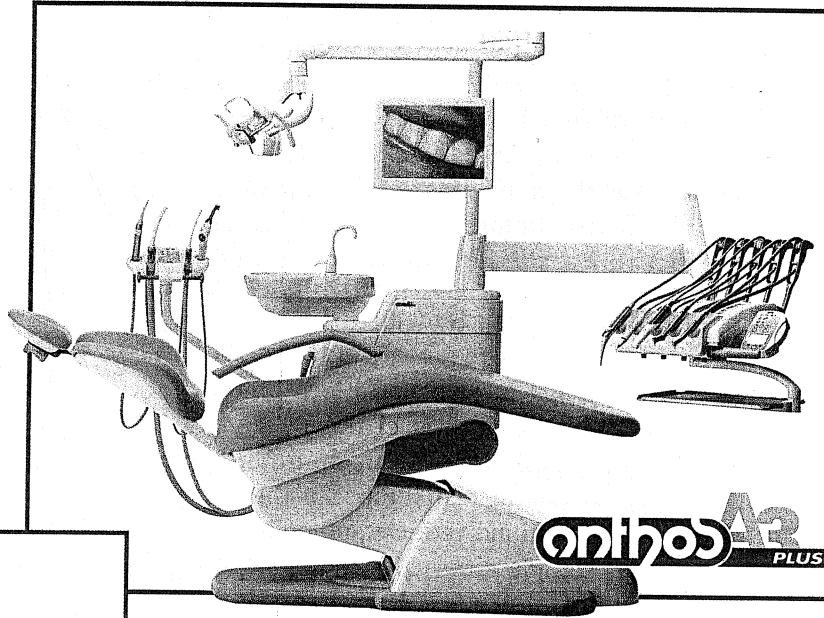
MMPs are also regulated by activation of the precursor zymogens and inhibition by endogenous inhibitors, tissue inhibitors of metalloproteases (TIMPs). The extracellular activation of most MMPs is regulated by a proteolytic cascade and can be initiated by other already activated MMPs or by several serine proteases. The TIMPs are the main natural inhibitors of MMPs and, as such, they tightly control metalloproteases catalytic activity. Thus, the balance between MMPs and TIMPs are critical for the eventual ECM remodeling.



SITEATM
tehnologie și stil

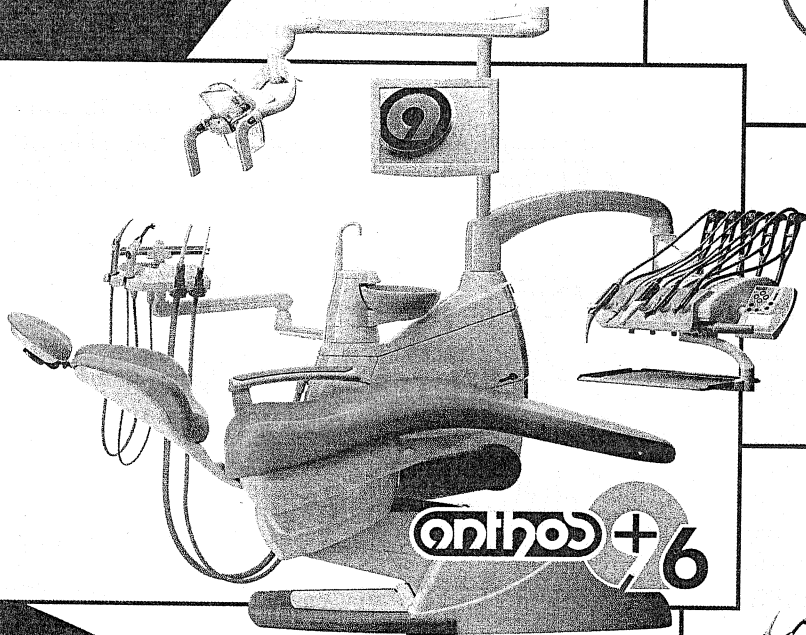
**Vizitează Showroom-ul SITEA!
Vezi diferența!**

Vă așteptăm zilnic în
Showroom-ul SITEA
de la sediul firmei,
unde puteți viziona
și testa întreaga
noastră ofertă de
unituri dentare
profesionale.

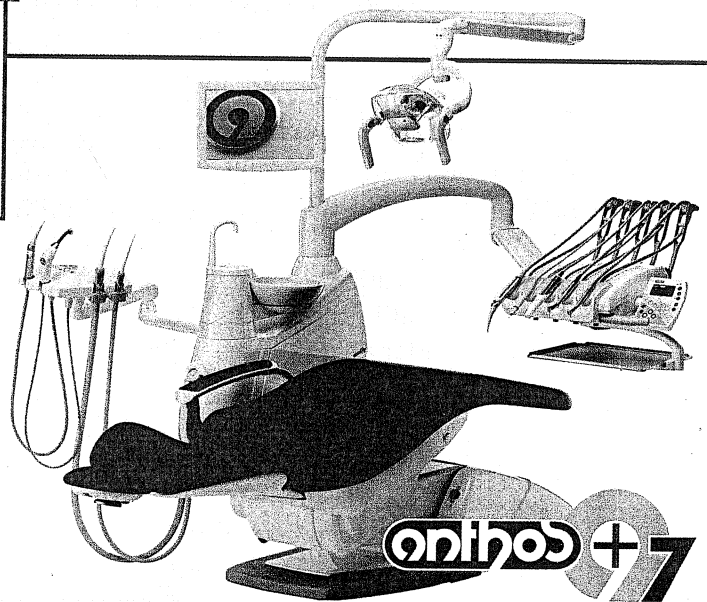


anthos A2 PLUS

Satisfacție completă !



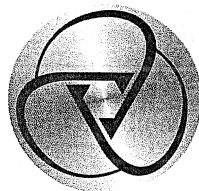
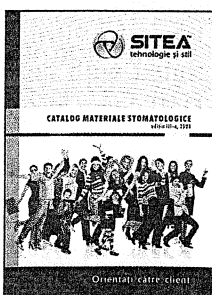
anthos +6



anthos +7

Pentru detalii
solicitați și consultați
Catalogul SITEA - Unituri Dentare-2008.

Configurații, echipări și prețuri personalizate,
disponibile permanent din Showroom-ul SITEA.



SITEATM
tehnologie și stil

Str. Oltarului nr. 4, sector 2, RO-020765, București
(Intersecția Calea Moșilor / Mihai Eminescu, la 200m către B-dul Carol I, pe partea dreaptă)

Tel./Fax: 021 528 03 20 -21 -22 -23
info@sitea.ro www.sitea.ro

Solicitați și consultați calaloagele **SITEA**

Reglarea transcripțională a MPM pare a fi pasul cheie în reglarea MPMurilor din moment ce majoritatea genelor MPM sunt exprimate doar când remodelarea activă fiziologică sau patologică a țesuturilor are loc.³²

Per ansamblu, este clar faptul că reglarea transcripțională a producției de MPM este un fenomen foarte complicat ce include reglarea producerii și degradării factorilor de transcripție, și reglarea activităților lor trans-activatoare și prin aceste procese modelarea producerii MPM-urilor în celule.

Variații spontane de secvență ale promotorilor MPM ar putea influența pași critici în legarea la factorii de transcripție, sau ai eficienței de transcripție, ceea ce are ca rezultat o discrepanță în expresia MPM-urilor la diferiții indivizi. Defapt, polimorfismul genetic poate degrada situsurile de legare al unor factori de reglare, influențând astfel expresia MPM-urilor.³³

Mecanismul de inhibiție al ITMP

ITMP (21–30 kDa) reprezintă majorii reglatori endogeni ai activității MPM-urilor în țesuturi, iar până în prezent au fost identificați patru ITMP omologi (ITMP-1 până la -4).³⁴

ITMP sunt proteine secretorii, dar pot fi găsiți pe suprafața celulară în asociere cu alte proteine membranare. ITMP prezintă efecte asupra creșterii celulare și a supraviețuirii ce nu pot fi înțelese întotdeauna în contextul abilității lor de a inhiba activitatea MPM-urilor.

ITMP-1 a fost identificat pentru prima dată ca un potențator al activității eritroidului³⁵, consecutiv ca și agent ce stimulează creșterea anumitor linii celulare.

ITMP-2 prezintă deasemenea activitate de potențator al activității eritroidului și stimulează creșterea celulelor limfatice³⁶ precum și a fibroblaștilor. ITMP-2 a fost detectat în jurul keratinocitelor migratorii din rănille umane, și se crede că este produs de aceste celule.³⁷

Niveluri înalte de ITMP-3 încurajează apoptoza în multe tipuri celulare atât *in vitro* cât și *in vivo*³⁸, acest efect fiind asociat cu modularea receptorilor apoptozei.

ITMP-4 poate declanșa de asemenea apoptoza în fibroblaștii cardiaci transformați, dar inhibă apoptoza

The transcriptional regulation of MMPs appears to represent the key step in MMPs regulation since most MMPs genes are expressed only when active physiological or pathological tissue remodeling takes place.³²

Overall, it is clear that the transcriptional regulation of MMPs production is a very complicated phenomenon including the regulation of the production and degradation of transcription factors and the regulation of their trans-activating activities and via these processes the modulation of MMPs production in cells.

Spontaneous sequence variations in the promoters of MMPs could influence critical steps in binding to transcription factors or overall transcriptional efficiency, which results in discrepancy in the expression of MMPs in different individuals. In fact, genetic polymorphisms can alter the binding sites of some functional regulating factors and influence the level of MMPs expression.³³

Inhibition mechanism of TIMPs

TIMPs (21–30 kDa) are the major endogenous regulators of MMPs activities in the tissue, and four homologous TIMPs (TIMPs-1 to -4) have been identified to date.³⁴

The TIMPs are secreted proteins, but may be found at the cell surface in association with membrane-bound proteins. TIMPs have effects on cell growth and survival that cannot always be clearly reconciled with their ability to abrogate MMPs activity.

TIMP-1 was first identified as an erythroid potentiating activity³⁵ and subsequently as an agent that stimulates growth of some cell lines.

TIMP-2 also has erythroid potentiating activity and stimulates the growth of lymphoma cells³⁶ and fibroblasts. TIMP-2 protein has been detected around migrating keratinocytes in human wounds and is believed, at least partially, to be produced by these cells.³⁷

High levels of TIMP-3 promote apoptosis in many cell types *in vitro* and *in vivo*³⁸, and this effect is associated with death receptor modulation.

TIMP-4 can also instigate apoptosis in transformed cardiac fibroblasts but inhibits apoptosis in human

în celulele cancerului mamar in vitro și în tumorile mamare in vivo; astfel fiind un promotor tumoral când este exprimat peste limite.

Se estimează faptul că ITMB inhibă invazia celulară in vitro, geneza tumorală, metastazele in vivo, și angiogeneza.³⁴ ITMP prezintă funcții biologice adiționale. ITMP-1 și -2 prezintă activități mitotice asupra unui număr de tipuri celulare, pe când expresia crescută a acestor inhibitori reduce creșterea tumorală³⁴, și ITMP-2, dar nu și ITMP-1 inhibă factorul de creștere al fibroblaștilor – ce induce creșterea celulei umane endoteliale.³⁸ Aceste activități biologice ale ITMP sunt independente de activitatea inhibitorie MPM.³⁹ ITMP fiind astfel niște reglatori importanți nu numai pentru turnoverul matriceal ci și pentru activitatea celulară.

Rezumat și perspective de viitor

În ultimii ani, MPM-urile au căpătat o atenție crescută în multe studii asupra evenimentelor tisulare fiziologice, inflamație, precum și procese inflamatorii, iar acest interes crescut se datorează probabil câtorva factori.

În primul rând, MPM sunt produși sau activați în funcție de necesitate, iar expresia acestor enzime asigură un indicator viabil al remodelării tisulare în desfășurare. Astfel, pentru investigatori, aceste enzime sunt modele de produse genice ce sunt reglate cu acuratețe și eliberate ținând pentru anumite substraturi extracelulare de către o mulțime de celule în timpul a numeroase procese tisulare normale, cum ar fi vindecarea rănilor, resorbția osoasă și morfogeneza. În contrast, o producție în exces a MPM-urilor reprezintă un semn distinctiv al multor boli distructive, cum ar fi ulcerările artritice sau cronice, și pentru o multitudine de procese ce sunt asociate acestor boli cum ar fi inflamarea, metastazele, angiogeneza, iar reglarea aberantă a producției de MPM este considerată a fi un mecanism primar ce contribuie la progresia bolii și a leziunii. Astfel, înțelegând mecanismul de expresie și activare al MPM-urilor, precum și identificarea proteinazelor ce sunt produse de către celule în condiții specifice va genera un mare impact asupra înțelegerii fiziologiei și a patogenezei bolilor.⁴⁰

Multe rapoarte recente au demonstrat faptul că diferite MPM acționează asupra proteinelor non-matriceale, cum ar fi citokinele, chemokinele, receptori și peptide antimicrobiane.⁴¹ Totuși, MPM-urile nu ar trebui văzute doar ca proteine ale catalizei

breast cancer cells in vitro and mammary tumours in vivo; it is thus a tumor promoter when overexpressed.

It is widely appreciated that TIMPs inhibit cell invasion in vitro, tumorigenesis, metastasis in vivo, and angiogenesis.³⁴ TIMPs exhibit additional biological functions. TIMP-1 and TIMP-2 have mitogenic activities on a number of cell types, whereas over expression of these inhibitors reduces tumor cell growth³⁴, and TIMP-2, but not TIMP-1, inhibits basic fibroblast growth factor-induced human endothelial cell growth.³⁸ These biological activities of TIMPs are independent of MMP-inhibitory activities.³⁹ TIMPs are therefore important regulators not only in matrix turnover but also in cellular activities.

Summary and future prospects

In recent years, MMPs have gained considerable attention in many studies on normal tissue events, inflammation, and disease processes, and this enhanced interest is probably due to several factors.

For the most part, MMPs are produced or activated when needed, and expression of these enzymes provides a reliable indicator of ongoing tissue remodeling. Thus, for investigators, these enzymes are models of gene products that are accurately regulated and precisely targeted to specific extracellular substrates by a wide variety of cells during numerous normal tissue processes, such as wound healing, bone resorption, and morphogenesis. In contrast, exuberant production of MMPs is a hallmark of many destructive diseases, such as arthritis and chronic ulcerations, and of many disease-related processes, such as inflammation, metastasis, and angiogenesis, and aberrant regulation of MMPs production is thought to be a primary mechanism contributing to disease progression and injury. As such, understanding how MMPs expression and activation are controlled and identifying which proteinases are produced by which cells under defined conditions will have a great impact on our understanding of normal biology and disease pathogenesis.⁴⁰

Several reports in recent years have demonstrated that various MMPs act on non-matrix proteins, such as cytokines, chemokines, receptors and antimicrobial peptides.⁴¹ Thus, MMPs should not be viewed solely as proteinases for matrix catalysis, but

matriceale, ci mai degrabă ca și enzime ale proceselor extracelulare, implicate în reglarea evenimentelor celulă-celulă, celulă-matrice.⁴²

MPM-urile continuă să fie descoperite. MPM-uri înalt specializate cum ar fi enamelizina ce se găsește doar în smalțul dintelui embrionic poate avea corespondenți nedescoperiți în alte țesuturi sau organe. Proiectul genomului uman va descoperi fără îndoială asemenea exemplare.

Mai sunt multe de învățat despre MPM-uri și inhibarea acestora. Nu știm aproape nimic despre substratul natural al MPM-urilor in vivo, despre modul în care celula simte și reglează nivelul de enzime și inhibitori ai matricei, precum și despre abilitatea celulei de a substitui o enzimă cu o alta în deficiențe. Atenția se va îndrepta fără dubii asupra modurilor de a regla activitatea prin manipulare genetică și prin expresia anumitor inhibitor enzimatici.

Bibliografie

1. Arakaki P A., Marques M R. and Santos M C L G. (2009) MMP-1 polymorphism and its relationship to pathological processes; *J. Biosci.* 34, 313–320.
2. Bachmeier BE, Nerlich AG, Boukamp P, Lichtinghagen R., Tschesche H., Fritz H., Fink E. (2000) Human keratinocyte cell lines differ in the expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases -1, -8, and 13 and of TIMP-1. *Biol Chem.* 381, 509-16.
3. Birkedal-Hansen H., Moore W.G.I., Bodeen M.K., et al. (1993) Matrix metalloproteinases: A review. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* 4,197-250.
4. Bode W. (1995) A helping hand for collagenases: the hemopexin-like domain. *Structure*3, 527–530.
5. Bode W., Reinemer P., Huber R., Kleine T., Schnierer S., and Tschesche H. (1994) The X-ray crystal structure of the catalytic domain of human neutrophil collagenase inhibited by a substrate analogue reveals the essentials for catalysis and specificity. *EMBO J.*13, 1263–1269.
6. Bond M., Murphy G., Bennett M. R., Amour A., Knauper V., Newby A. C. and Baker A. H. (2000) Localization of the death domain of tissue inhibitor of metalloproteinase-3 to the N terminus. Metalloproteinase inhibition is associated with proapoptotic phenotype. *J. Biol. Chem.* 275, 41358-41363.
7. Borden P. and Heller R. A. (1997) Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. *Crit. Rev. Eukaryot. Gen. Expression*7, 159–178.
8. Brinckerhoff C E, Rutter J L and Benbow U. (2000) rather as extracellular processing enzymes involved in regulating cell-cell and cell-matrix signaling events, typically gain-of-function processing of latent proteins.⁴² MMPs continue to be discovered. Highly specialized MMPs such as enamelysin, found only in the embryonic tooth enamel may have corresponding undiscovered counterparts in other tissues or organs. The human genome project will no doubt uncover further examples.
9. Brinckerhoff CE, Matrisian LM (2002) Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol*3, 207–214.
10. Chesler L., Golde D. W., Bersch N., and Johnson M. D. (1995) *Blood* 86, 4506–4515.
11. Ding Y., Haapasalo M., Kerosuo E., Lounatmaa K., Kotiranta A., Sorsa T. (1997) Release and activation of human neutrophil matrix metallo- and serine proteinases during phagocytosis of *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *J Clin Periodontal.* 24, 237-48.
12. Freije JM, Diez-Itza I, Balbin M., Sanchez LM, Blasco R., Tolivia J., Lopez-Otin C. (1994) Molecular cloning and expression of collagenase-3, a novel human matrix metalloproteinase produced by breast carcinomas. *J Biol Chem.* 269, 16766-73.
13. Gasson J. C., Golde D. W., Kaufman S. E., Westbrook C. A., Hewick R. M., Kaufman R. J., Wong G. G., Temple P. A., Leary A. C., Brown E. L. et al. (1985) Molecular characterization and expression of the gene encoding human erythroid-potentiating activity. *Nature* 315, 768-771.
14. Giambernardi TA, Grant GM, Taylor GP, Hay RJ, Maher VM, McCormick JJ, Klebe RJ. (1998) Overview of matrix metalloproteinases expression in cultured human cells. *Matrix Biol.* 16, 483-96.
15. Gomez D. E., Alonso D. F., Yoshiji H., and Thorgeirsson U. P. (1997) *Eur. J. Cell Biol.* 74, 111–122.

16. Gomis-Rüth F.-X., Maskos K., Betz M., Bergner A., Huber R., Suzuki K., Yoshida N., Nagase H., Brew K., Bourenkov G. P., Bartunik H., and Bode W. (1997) Mechanism of inhibition of the human matrix metalloproteinase stromelysin-1 by TIMP-1. *Nature (London)* 389, 77–8.
17. Gross J., Lapiere CM (1962) Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 48, 1014–1022.
18. Hasty KA, Pourmotabbed TF, Goldberg GI, Thompson JP, Spinella DG, Stevens RM, Mainardi CL. (1990) Human neutrophil collagenase. A distinct gene product with homology to other matrix metalloproteinases. *J Biol Chem.* 265, 11421–24.
19. Johansson N., Ahonen M., Kähäri VM. (2000) Matrix metalloproteinases in tumour invasion. *Cell Mol Life Sci.* 57, 5–15.
20. Kähäri VM and Saarialho-Kere U. (1999) Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. *Ann Med.* 31, 34–45.
21. Kiili M., Cox SW, Chen HW, Wahlgren J., Maisi P., Eley BM, Salo T, Sorsa T. (2002) Collagenase-8 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalization in gingival tissue. *J Clin Periodonto.* 29, 224–32.
22. Knäuper V., Lopez-Otin C., Smith B., Knight G., Murphy G. (1996a) Biochemical characterization of human collagenase-3. *J Biol Chem.* 271, 1544–1550.
23. Konttinen YT, Ceponis A., Takagi M., Ainola M., Sorsa T., Sutinen M. (1998) New collagenolytic enzymes/cascade identified at the pannus-hard tissue junction in rheumatoid arthritis: destruction from above. *Matrix Biol.* 17, 585–601.
24. Lindy O., Konttinen YT, Sorsa T., Ding Y., Santavirta S., Ceponis A., Lopez-Otin C. (1997) Matrix metalloproteinase 13 (collagenase 13) in human rheumatoid synovium. *Arthritis Rheum.* 40, 1391–9.
25. Massova I, Kotra L P., Fridman R. and Mobashery S. (1998) Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J.* 12, 1075–1095.
26. Matrisian L. (1990) Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Trends Genet.* 6, 121–125.
27. Meng N., Li Y., Zhang H. and Sun X.F. (2008) RECK, a novel matrix metalloproteinase regulator. *Histol. Histopathol.* 23, 1003–1010.
28. Moilanen M., Sorsa T, Stenman M., Nyberg P., Lindy O., Vesterinen J., Paju A., Konttinen YT, Stenman U-H, Salo T. (2003) Tumour-associated trypsinogen-2 (trypsinogen-2) activates procollagenases (MMP-1, -8, -13) and stromelysin-1 (MMP-3) and degrades type I collagen. *Biochemistry.* 42, 5414–20.
29. Murphy A. N., Unsworth E. J., and Stetler-Stevenson W. G. (1993) *J. Cell. Physiol.* 157, 351–358.
30. Owen CA, Hu Z., Lopez-Otin C., Shapiro SD. (2004) Membrane-bound matrix metalloproteinase-8 on activated polymorphonuclear cells is a potent, tissue inhibitor of metalloproteinase-resistant collagenase and serpinase. *J Immunol.* 172, 7791–803.
31. Page-McCaw A., Ewald A J. and Werb Z. (2007) Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodeling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 221–233.
32. Parks W. C., Mechem R. P. (1998) Matrix metalloproteinases. Academic Press Limited, UK.
33. Pendas A. M., Knäuper V., Puente X. S., Llano E., Mattei M. G., Apte S., Murphy G., and Lopez-Otin C. (1997) Identification and characterization of a novel human matrix metalloproteinase with unique structural characteristics, chromosomal location, and tissue distribution. *J. Biol. Chem.* 272, 4281–4286.
34. Pirilä E., Ramamurthy N., Maisi P., WcClain S., Kucine A., Wahlgren J., Golub L., Salo T., Sorsa T. (2001) Wound healing in ovariectomized rats. Effects of chemically modified tetracycline (CMT-8) and estrogen on matrix metalloproteinases -8, -13 and type I collagen expression. *Curr Med Chem.* 7, 281–94.
35. Puente XS, Sanchez LM, Overall CM, Lopez-Otin C. (2003) Human and mouse proteases: a comparative genomic approach. *Nat Rev Genet.* 4, 544–58.
36. Romanelli R., Mancini S., Laschinger C., Overall CM, Sodek J., McCulloch CA (1999) Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. *Infect Immun.* 67, 2319–2326.
37. Shapiro S D. (1998) Matrix metalloproteinase degradation of extracellular matrix: biological consequences; *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 602–608.
38. Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. (2004) Matrix metalloproteinases (MPPs) in oral diseases. *Oral Dis.* 10, 311–8.
39. Stähle-Bäckdahl M., Sanstedt B., Bruce K., Lindahl A., Jimenez MG, Vega JA, Lopez-Otin C. (1997) Collagenase-3 (MMP-13) is expressed during human fetal ossification and re-expressed in postnatal bone remodelling and in rheumatoid arthritis. *Lab Invest.* 76, 717–728.
40. Steffensen B., Wallon U. M., Overall C. M. (1995) Extracellular matrix binding properties of recombinant fibronectin type II-like modules of human 72-kDa gelatinases /type IV collagenases. *J. Biol. Chem.* 270, 11555–11566.
41. Sternlicht MD., Werb Z. (2001) How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 17, 463–516.
42. Stetler-Stevenson, M., Mansoor, A., Lim, M. S., Fukushima, P., Kerhl, J., Marti, G., Ptaszynski, K., Wang, J. and Stetler-Stevenson, W. G. (1997) Expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in reactive and neoplastic lymph nodes. *Blood* 89, 1708–1715.
43. Sulkala M., Pääkkönen V., Larmas M., Salo T., Tjaderhane L. (2004) Matrix metalloproteinase-13 (MMP-13, collagenase-3) is highly expressed in human tooth pulp. *Connect Tissue Res.* 45, 1–7.

44. Tervahartiala T., Pirilä E., Ceponis A., Maisi P., Salo T., Tuter G., Kallio P., Törnwall J., Srinivas R., Kontinen YT, Sorsa T. (2000) The in vivo expression of the collagenolytic matrix metalloproteinases (MMP-2, -8, -13, -14) and matrilysin (MMP-7) in adult and localized juvenile periodontitis. *J Dent Res.* 79, 1969-77.

45. Vaalamo M., Mattila L., Johansson N., Kariniemi A-L, Karjalainen-Lindsberg M-L, Kahari VM, et al. (1997) Distinct

populations of stromal cells express collagenase-3 (MMP-13) and collagenase-1 (MMP-1) in chronic ulcers but not in normally healing wounds. *J Invest Dermatol.* 109, 96-101.

46. Wahlgren J., Maisi P., Sorsa T., Sutinen M., Tervahartiala T., Pirilä E., Teronen O., Hietanen J., Tjäderhane L., Salo T. (2001) Expression and induction of collagenases (MMP-8 and MMP-13) in plasma cells associated with bone-destructive lesions. *J Pathol.* 194, 217-24.