

ELASTINA

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26810/figure/A3570/?report=objectonly>
<http://www.pathology.washington.edu/research/centers/services/Pictures/>

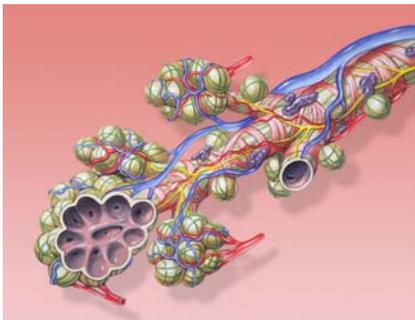
Fibrous ECM Proteins: Elastin

- Elastic fibers permit long-range deformability and passive recoil.
- Elastic modulus is ~0.1 MPa.
- This function is crucial for arteries, lung, skin and other dynamic connective tissues that undergo cycles of extension and recoil.
- The major component of elastic fibers is the thread-like protein *elastin*
- *Fibrillins* provide an outer structure for amorphous, cross-linked elastin.
- During ageing, elastin is degraded and becomes inflexible.

(a) Stretching (b) Relaxation

Aorta
Dense irregular elastic connective tissue

Extracellular Matrix, 01/07, Rodis Hinz, PhD, EPFL/SB/PMCL/CR Kielty, C.M. et al. 2002. *J Cell Sci.* 115:2817-28. Slide 7



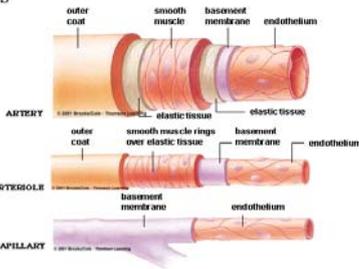
Alveoli polmonari
http://en.wikipedia.org/wiki/Pulmonary_alveolus

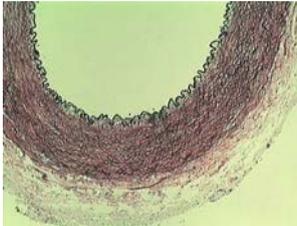
Blood Vessels

Arteries: main transporters of oxygenated blood

Arterioles: diameter is adjusted to regulate blood flow

Capillaries: diffusion occurs across thin walls





<http://wmares.wikispaces.com/06+Cardiology>
<http://www.onlinehealthcaredegrees.com/resources/picture-atlas-to-microanatomy/>

Elastina – [1]

- ✚ Molti tessuti (ad es. **pelle**, **vasi sanguigni**, **polmoni**) hanno bisogno di essere sia **resistenti** che **elastici** per funzionare.
- ✚ La **resilienza** è data da una rete di fibre elastiche che permette il riavvolgimento dopo uno stiramento transitorio.
- ✚ Le fibre elastiche sono almeno 5 volte più estensibili di una fascia elastica con la stessa sezione.
- ✚ **L'estensione è limitata da lunghe fibrille inelastiche di collagene** frammiste con le fibre elastiche, che così impediscono ai tessuti di strapparsi.
- ✚ L'**elastina**, come il collagene, è inusualmente **ricca di prolina e glicina** ma, al contrario del collagene, **non è glicosilata** e contiene **poca idrossiprolina** e **nessuna idrossilisina**.

Elastina – [2]

- ✚ Le **fibre elastiche**, tuttavia, **non sono composte solo di elastina**: la zona centrale di elastina è ricoperta da uno **strato di microfibrille**, ciascuna delle quali ha un diametro di circa 10 nm.
- ✚ Microfibrille dello stesso tipo si possono trovare anche in MECs che non contengono elastina.
- ✚ Le **microfibrille** sono composte da un **gran numero di glicoproteine diverse**, che includono la glicoproteina di grandi dimensioni **fibrillina** che sembra essere essenziale per l'integrità delle fibre elastiche.
- ✚ Alterazioni delle gene per la fibrillina provocano la **sindrome di Marfan**, una malattia genetica relativamente comune che colpisce i tessuti connettivi, ricchi in fibre elastiche: negli individui colpiti in modo più serio l'**aorta**, la cui parete è normalmente piena di elastina, è soggetta a rompersi.

Elastina – [3]

- ✚ Si pensa che le **microfibrille giochino un ruolo importante per l'assemblamento delle fibre elastiche**: compaiono prima dell'elastina durante lo sviluppo embrionale e sembrano formare una impalcatura su cui viene depositata l'elastina secreta.
- ✚ Mentre l'elastina viene depositata, le microfibrille vengono spostate verso la periferia della fibra in crescita.

Elastina – [4]

- ✚ Le fibre di elastina sono insolite in quanto **durano quanto l'arco di vita dell'organo in cui sono depositate**.
- ✚ Di solito non c'è formazione di nuove fibre nell'adulto.
- ✚ Le stesse fibre elastiche depositate durante la vita fetale debbono resistere fino a migliaia di milioni di cicli di stiramento e riavvolgimento senza deformazione irreversibile o incapacità funzionale.
- ✚ Quando le fibre di elastina sono danneggiate nell'adulto l'elastina di nuova sintesi, organizzata in modo improprio, non è in grado di funzionare correttamente.
- ✚ Ciò porta a alterazioni della rigidità del tessuto e sviluppo di patologie.
- ✚ L'elastina è importante per l'**integrità** ed **elasticità** dei tessuti, essendo responsabile per la forza e flessibilità.

Composizione dell'elastina – [1]

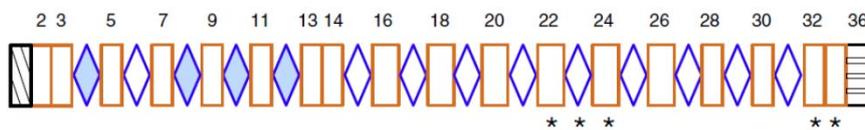
- Un singolo gene codifica per l'elastina di mammiferi, uccelli e rettili.
- Il trascritto umano contiene 34 esoni ed è secreto dalle cellule sotto forma di tropoelastina, un monomero altamente idrofobico, ~60kDa, sottoposto a splicing alternativo.
- La sequenza primaria della **tropoelastina** è caratterizzata da **domini alternati idrofobico e formando legami incrociati**.
- I **domini per i cross-links** hanno la caratteristica di avere due o tre residui di **lisina** che sono distanziati da tre o quattro residui.
 - I residui di lisina (**K**) sono tipicamente affiancati da **alanine (A)**, come ad esempio **AAKAAKA (domini tipo KA)**, ma possono essere disposti con sequenze ricche di prolina (P) - e glicina (G), per esempio **PGAGVKPGKGP (domini KP)**.

Muiznieks LD, Keeley FW. **Molecular assembly and mechanical properties of the extracellular matrix: A fibrous protein perspective.** *Biochim Biophys Acta.* 2013 Jul;1832(7):866-75.

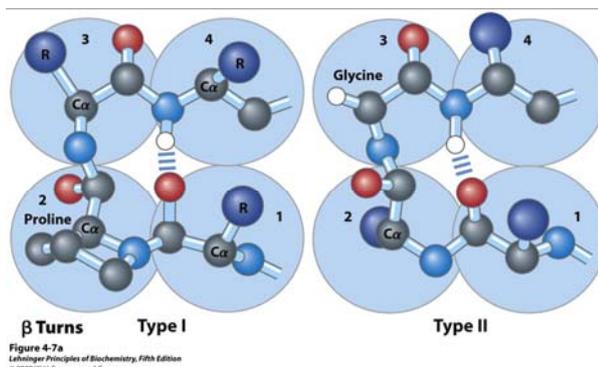
Composizione dell'elastina – [2]

- I **domini idrofobici** sono ricchi (>80%) in residui di **glicina**, **prolina**, **valina** e **alanina**, di solito disposti in combinazioni a tandem di motivi GV, GVA e PGV.
 - Queste sequenze transitoriamente sono presenti in motivi strutturali locali, quali ad esempio in « **β -turns**» di **tipo II** e in corte **eliche di poliprolina II**, un elica sinistrorsa flessibile che manca di ponti d'idrogeno.

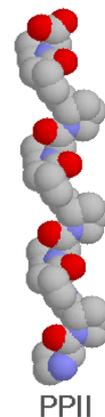
L.D. Muiznieks, F.W. Keeley / *Biochimica et Biophysica Acta* 1832 (2013) 866–875



Tipi di β -turns



Elica di poliprolina II



<http://www.cryst.bbk.ac.uk/pps97/assignments/projects/szabo/pphelix.htm>

Seminario

L.D. Muiznieks, F.W. Keeley / *Biochimica et Biophysica Acta* 1832 (2013) 866–875

Schema della struttura a domini del monomero della tropoelastina (proelastina solubile) umana.

- Il monomero dell'elastina comprende domini idrofobici alternati (rettangoli arancione) e domini che formano legami incrociati (losanghi)
- I domini sono numerati.
- La tropoelastina genomica umana ha perso una sequenza corrispondente agli esoni 34 e 35 rispetto a quella delle altre specie dei mammiferi.
- I domini formanti legami incrociati tipo KP – sono colorati in azzurro, i domini incrociati tipo KA sono bianchi.
- Il dominio 1 (righe diagonali) è una sequenza segnale.
- Il dominio C-terminale 36 (righe orizzontali) è altamente basico e contiene gli unici due residui di cisteina della proteina.
- I domini con splicing alternativo degli esoni sono marcati con un asterisco.
- I domini non sono disegnati in scala.

Sintesi e assemblaggio delle fibre di elastina - [1]

- La tropoelastina è secreta come monomero principalmente dai **fibroblasti** e dalle cellule **muscolari lisce** nello spazio extracellulare dove subisce separazione di fase (detta «**coacervazione**») formando **globuli ricchi di proteina** che in seguito daranno origine alla formazione di fibre elastiche.
- La fase precoce dell'assemblaggio delle fibre elastiche comprende l'auto-associazione di monomeri attraverso i domini idrofobici – coacervazione.
- In questa prima fase, le goccioline rimangono attaccate alla superficie cellulare mediante **interazioni con proteine sulla superficie cellulare**, la cui identità non è stata totalmente chiarita.

Patel D, Menon R, Talte L.J. Self-assembly of elastin-based peptides into the ECM: the importance of integrins and the elastin binding protein in elastic fiber assembly. *Biomacromolecules*. 12:432-440, 2011.

Sintesi e assemblaggio delle fibre di elastina - [2]

- ✚ Sono probabili candidati Proteoglicani ad eparan solfato (HS_PG) o a condroitin solfato (CS-PG) ad elevata carica negativa che si legano alla tropoelastina mediante un cluster caratteristico di residui carichi e idrofobici presenti nel C-terminale dell'elastina, potenzialmente inducendo un ulteriore processo di trasduzione di segnale.
- ✚ Oppure, le goccioline superficiali possono interagire con la superficie cellulare mediante:
 - Recettore accoppiato a proteina G
 - Con l'integrina $\alpha\beta3$ mediante un sito di interazione non-RGD
 - Con un complesso «Elastin Binding Protein» (EBP) che riconosce corti motivi tipo-VPG presente nei domini idrofobici dell'elastina.

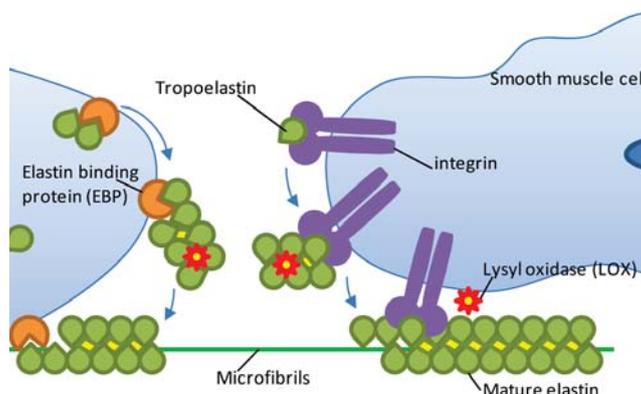
Patel D, Menon R, Talke LJ. Self-assembly of elastin-based peptides into the ECM: the importance of integrins and the elastin binding protein in elastic fiber assembly. *Biomacromolecules*. 12:432-440, 2011.

Sintesi e assemblaggio delle fibre di elastina - [3]

- ✚ Le goccioline funzionano come veicoli ottimizzati per la consegna e deposizione di monomeri per la fibra in crescita.
- ✚ La formazione delle **fibre elastiche** coinvolge la deposizione delle goccioline di coacervato in **microfibrille** ricche di **fibrillina** e nella **formazione di cross-links nell'elastina** nei residui di lisina, catalizzata dalla **lisil ossidasi**.
- ✚ Le fibre elastiche mature sono costituite da circa 90% di elastina e di circa 10% di microfibrille ricche di fibrillina, che sono localizzate soprattutto alla periferia ma sono anche disperse nella fibra.

Patel D, Menon R, Talke LJ. Self-assembly of elastin-based peptides into the ECM: the importance of integrins and the elastin binding protein in elastic fiber assembly. *Biomacromolecules*. 12:432-440, 2011.

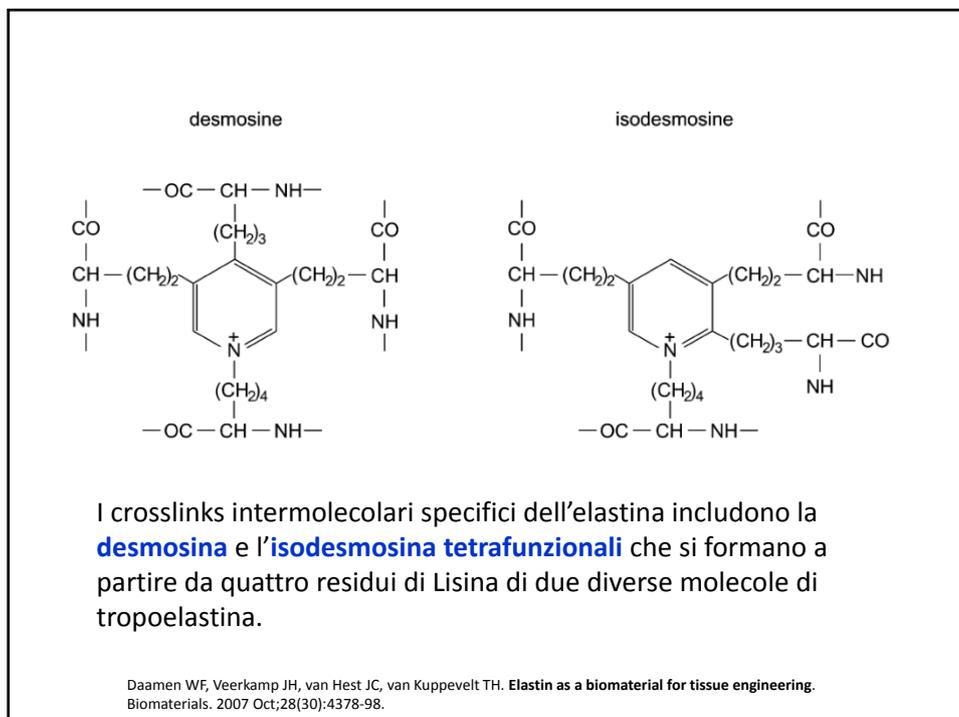
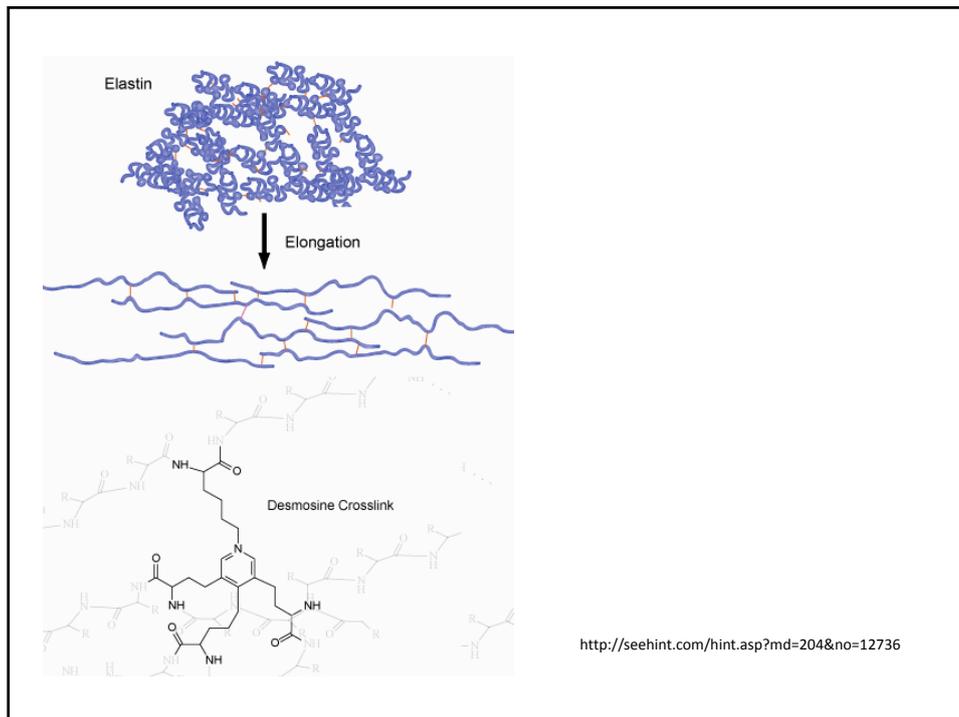
Patel D, Menon R, Taite LJ. Self-assembly of elastin-based peptides into the ECM: the importance of integrins and the elastin binding protein in elastic fiber assembly. *Biomacromolecules*. 12:432-440, 2011.

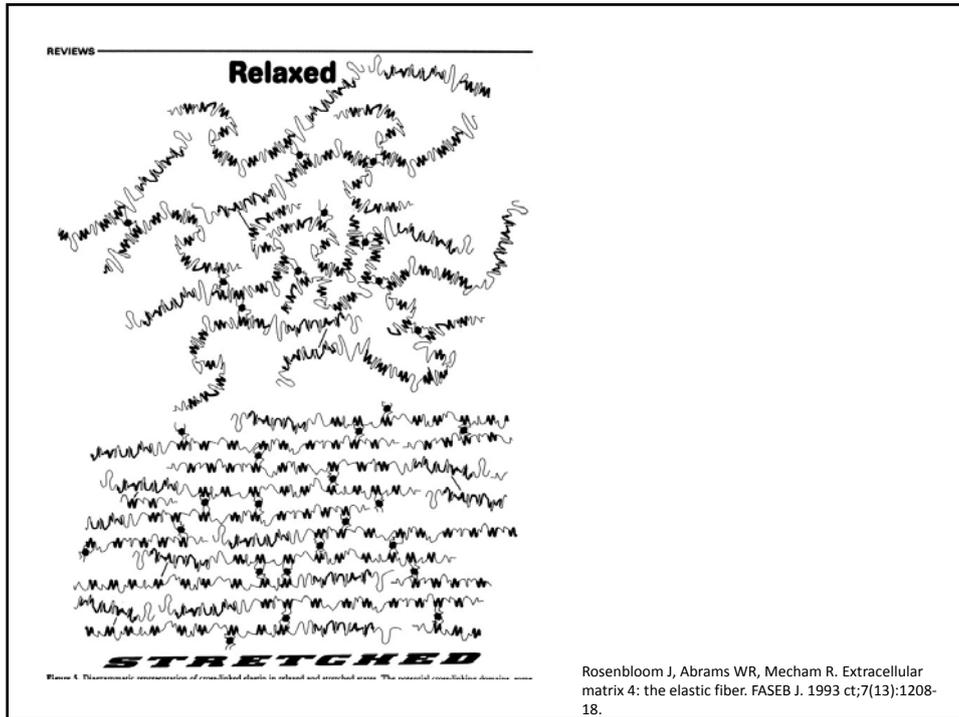


La produzione di elastina coinvolge una sequenza di eventi che comprendono la secrezione di **tropoelastina** che si lega alla "**elastin binding protein**" (EBP) sulle superficie cellulari. Gli aggregate di tropoelastina sono allora trasportati alle microfibrille vicine coinvolte nell'aassemblaggio della fibra di elastina, e la EBP viene riciclata. La integrina $\alpha\beta3$ è in grado di legarsi anche alla regione C-terminale della tropoelastina, giocando un ruolo tuttora ignoto nella sintesi dell'elastina matura.

Formazione dei cross-links

- ✚ La molecole di **tropoelastina** vengono **legata mediante legami incrociati attraverso i residui di lisina** mediante l'azione dell'enzima rame-dipendente **lisil ossidasi**.
- ✚ I legami incrociati forniscono **integrità strutturale** e **durabilità** alle fibre elastiche e contribuiscono alla loro grande insolubilità.
- ✚ La lisil ossidasi si trova localizzata alla superficie dei globuli di coacervato di tropoelastina e nelle fibre di elastina.
- ✚ La formazione di cross-links della lisina coinvolge la deaminazione ossidativa dei dei loro gruppi aminici- ϵ seguita da eventi di condensazione spontanea, e provoca la formazione di legami tetrafunzionali di **desmosina** e **isodesmosina** e ponti bifunzionali allisina-aldol e lisonorleucine.





Differenze tra **collagene** e **elastina**, segue

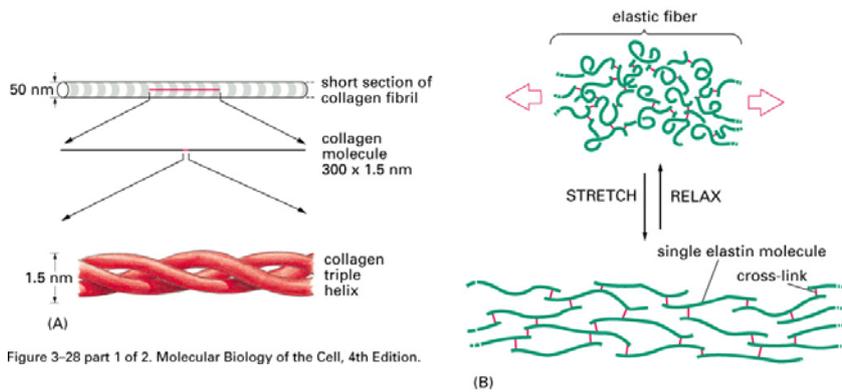


Figure 3-28 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Figure 3-28 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26830/figure/A435/>

Differenze tra *collagene* e *elastina*

- ✚ Il *collagene* è una **tripla elica** formata da tre proteine allungate che si avvolgono l'una con l'altra. Nello spazio extracellulare, molte molecole di collagene simili a bastoncini sono unite l'una all'altra da legami trasversali e formano fibrille di collagene inestensibili (in alto) che hanno la resistenza alla trazione dell'acciaio.
- ✚ Le catene polipeptidiche di *elastina* sono unite da legami trasversali e formano fibre elastiche. Ciascuna molecola di elastina si svolge in una conformazione più allungata quando la fibra è stirata. Il sorprendente contrasto fra le proprietà fisiche dell'elastina e del collagene è dovuto interamente alle **loro sequenze aminoacidiche molto diverse**.

ELASTINA & PATOLOGIA – [1]

- ✚ Le *fibre elastiche* sono una delle principali classi delle fibre della matrice extracellulare, abbondanti nei **tessuti connettivi dinamici** quali le **arterie**, i **polmoni**, la **pelle** e i **legamenti**.
- ✚ Il loro ruolo strutturale più importante è quello di fornire ai tessuti la **capacità di riavvolgimento elastico** e la **resilienza**.
- ✚ Inoltre fungono da importante **stampo** (“template”) per l'**adesione** delle cellule e **regolano la disponibilità dei fattori di crescita**.
- ✚ Mutazioni nelle principali componenti strutturali delle fibre elastiche, specialmente l'*elastina*, le *fibrilline* e la fibulina-5, provocano patologie ereditarie molto gravi, che spesso mettono a repentaglio la vita, quali la **sindrome di Marfan**, la stenosi sopralvalvolare aortica e la *cutis laxa*.

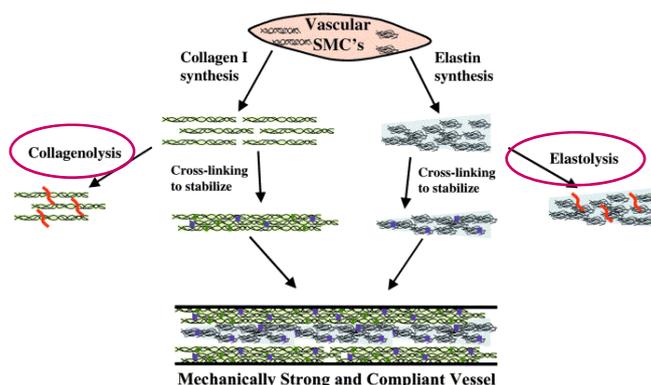
Kielty CM. Elastic fibres in health and disease. Expert Rev Mol Med. 8:1-23, 2006

ELASTINA & PATOLOGIA – [2]

- La funzione delle fibre elastiche è inoltre frequentemente compromessa nei tessuti elastici danneggiati o invecchiati.
- La **capacità di regenerare o ingegnerizzare le fibre e i tessuti elastici** rimane una sfida significativa, che richiede una comprensione approfondita delle basi molecolari e cellulari della biologia e patologia delle fibre elastiche, e la capacità di regolare l'espressione spazio-temporale e l'assemblaggio dei suoi componenti molecolari.

Kielty CM. *Elastic fibres in health and disease*. Expert Rev Mol Med. 8:1-23, 2006

Concetti importanti per capire le matricine derivate dall'elastina e/o dal collagene



Il collagene e l'elastina della parete dei vasi sanguigni sono secreti dalle cellule muscolari lisce della parete dei vasi sanguigni. **I legami incrociati stabilizzano il collagene e l'elastina rendendoli meno vulnerabili alla proteolisi.** Gli strati ben-organizzati di collagene e di elastina danno origine ad un vaso sanguigno più forte e conforme alle sollecitazioni dinamiche.