

**Alveoli polmonari**

[http://en.wikipedia.org/wiki/Pulmonary\\_alveolus](http://en.wikipedia.org/wiki/Pulmonary_alveolus)

La **tonaca media** dell'aorta conferisce **elasticità** e **resistenza** alla parete dell'aorta ed è composta da strati alternati di cellule muscolari lisce e fibre elastiche

**Arteria Elastica**

Fig.10 93W6515 Artery cs v&e

[http://anatomy.kmu.edu.tw/BlockHis/Block3/slides/block4\\_2\\_0.html](http://anatomy.kmu.edu.tw/BlockHis/Block3/slides/block4_2_0.html)

Karimi A, Milewicz DM. Structure of the Elastin-Contractile Units in the Thoracic Aorta and How Genes That Cause Thoracic Aortic Aneurysms and Dissections Disrupt This Structure. Can J Cardiol. 2016 Jan;32(1):26-34.

## 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 (fibrillin-1, fibrillin-2, «Microfibril-Associated Glycoprotein-1» (MAGP-1), emiline, «Latent Transforming Growth Factor b-Binding proteins (LTBPs), microfibrillar-associated proteins (MFAPs), e Fibuline). Le **fibrilline** sembrano essere essenziali 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 (aneurisma).

## 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 idrofobici** (che assicurano l'elasticità) alternati a **domini ricchi di lisina (K) 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 solitamente affiancati da **alanine (A)**, come ad esempio AA**K**AA**K**A (**domini tipo KA**), ma possono essere disposti in sequenze ricche di prolina (P) e di glicina (G), per esempio PGAGV**K**PG**K**GP (**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.

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.

## Composizione dell'elastina – [2]

- I residui di **lisina** sono essenziali dato che la loro deaminazione permette la formazione di legami covalenti maturi, detti **desmosine** e **isodesmosine**, che conferiscono resistenza meccanica all'elastomero.
- I **domini idrofobici** sono ricchi (>80%) in residui di **glicina (G)**, **prolina (P)**, **valina (V)** e **alanina (A)**, 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 « **$\beta$ -turns**» di **tipo II** e in corte **eliche di poliprolina II**, un'elica sinistrorsa flessibile che manca di ponti d'idrogeno.

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.

Scandolera A et al., **The Elastin Receptor Complex: A Unique Matricellular Receptor with High Anti-tumoral Potential.** *Front Pharmacol.* 2016 Mar 4;7:32.

### Structure of $\beta$ -turns

Type I                      Type II

$\beta$  Turns (a)

- Connecting elements that link successive runs of an alpha helix or a beta sheet.
- A 180° turn of four amino acids
- Most common type of turn

Lohman, 2005, Figure 4.4

Elica di poliprolina II

PPII

<http://image.slidesharecdn.com/proteinstructure-140815104832-phapp01/95/proteinstructure-60-638.jpg?cb=1408099881>

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

Seminario

Tropoelastin                      Smooth muscle cell

Elastin binding protein (EBP)                      integrin

Lysyl oxidase (LOX)

Microfibrils                      Mature elastin

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’assemblaggio della fibra di elastina, e la EBP viene riciclata. La integrina  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$  è in grado di legarsi anche alla regione C-terminale della tropoelastina, giocando un ruolo tuttora ignoto nella sintesi dell’elastina matura.

Patel D, Menon R, Taitte LJ. Self-assembly of elastin-based peptides into the ECM: the importance of integrins and the elastin binding protein in elastic fiber assembly. *Biomacromolecules*. 2011 Feb 14;12(2):432-40.

Seminario

## Sintesi e assemblaggio delle fibre di elastina - [1]

- ✚ La tropoelastina è secreta come monomero principalmente dai **fibroblasti** ma anche da cellule endoteliali e da 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, 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. 2011 Feb 14;12(2):432-40.

Seminario

## Coacervati

- ✚ La coacervazione è un tipo molto particolare di separazione di fase liquido-liquido pilotato da interazioni elettrostatiche che dà origine all'associazione di macro-ioni di carica opposta.
- ✚ Il termine **coacervato** è talvolta utilizzato per descrivere **aggregati sferici di goccioline idrofobiche tenute insieme da forze idrofobiche**.
- ✚ Le goccioline di coacervato possono misurare da 1 a 100  $\mu\text{m}$ , mentre i loro precursori solubili sono dell'ordine di meno di 200 nm.
- ✚ Il termine coacervato deriva dal latino coacervare, ossia assemblare insieme o aggregare.

<https://en.wikipedia.org/wiki/Coacervate>

Seminario

## Sintesi e assemblaggio delle fibre di elastina - [2]

- ✚ Le goccioline di elastina probabilmente rimangono attaccate a **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, Taitte LJ. Self-assembly of elastin-based peptides into the ECM: the importance of integrins and the elastin binding protein in elastic fiber assembly. *Biomacromolecules*. 2011 Feb 14;12(2):432-40.

Seminario

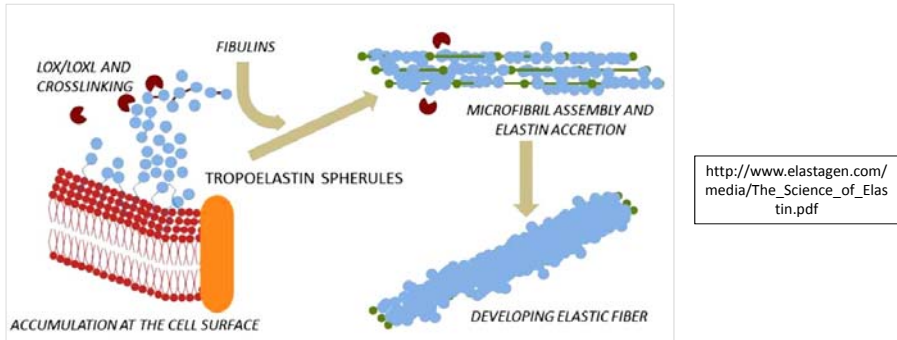
## Sintesi e assemblaggio delle fibre di elastina - [3]

- ✚ 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, Taitte LJ. Self-assembly of elastin-based peptides into the ECM: the importance of integrins and the elastin binding protein in elastic fiber assembly. *Biomacromolecules*. 2011 Feb 14;12(2):432-40.

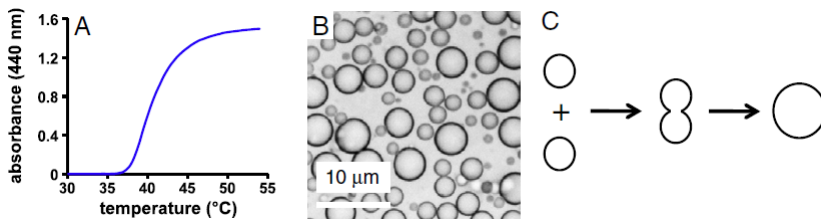


### Rappresentazione schematica della formazione delle fibre di elastina

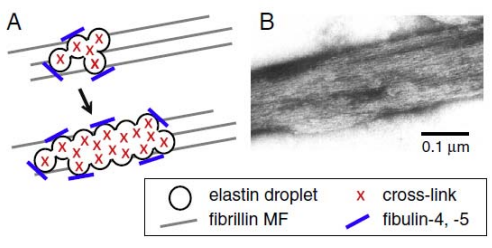


[http://www.elastagen.com/media/The\\_Science\\_of\\_Elastin.pdf](http://www.elastagen.com/media/The_Science_of_Elastin.pdf)

La **tropoelastina** viene espressa e in seguito secreta nella matrice extracellulare come forma matura della proteina. La tropoelastina si accumula sulla superficie cellulare, prima come piccole particelle e in seguito come sferule di maggiori dimensioni, di circa 1 µm, che di fatto sono coaccervati di tropoelastina associati in modo massiccio. In uno stadio indefinito, la tropoelastina è sottoposta all'**ossidazione mediante lisil ossidasi** in un sottinsieme di **lisine** che in seguito partecipano a reazioni di **condensazione aldolica** e di **basi di Schiff** per formare **legami incrociati**. L'elastina in formazione è presentata alle microfibrille della MEC mediante proteine della famiglia delle fibuline nelle regioni in cui le fibre di elastina si assemblano. La risultante elastina è una struttura molto stabile e persistente che ha una capacità impressionante di conferire la capacità di riavvolgersi ai tessuti.



**Coacervation of tropoelastin.** A. Representative coacervation curve illustrating a sharp increase in absorbance once a critical temperature is reached. B. Light microscopy image of coacervate droplets in vitro. C. Schematic shows droplet growth by coalescence.



**Elastic fiber formation. A. Elastin coacervate is deposited onto fibrillin microfibrils (MF) and cross-linked by lysyl oxidase.** Elastic fibers are associated with many matrix macromolecules, including fibulin-4 and fibulin-5. **B. Fibrillar elastin aggregate.**

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.

**Fibrillin assembly at cell surface**

**Microfibril (MF) maturation**

**Microfibril bundles**

**Elastic fibres**

**Transglutaminase crosslinks (microfibrils)**

$$\text{fibrillin} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CNH}_2 + \text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{fibrillin} \rightarrow \text{fibrillin} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CNCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{fibrillin} + \text{NH}_3$$

**Tetrafunctional lysyl-derived crosslinks (elastin)**

**DESOSINE**

**ISODESMOSINE**

Kielty CM, Sherratt MJ, Shuttleworth CA. **Elastic fibres.** J Cell Sci. 2002 Jul 15;115(Pt 14):2817-28.

Formazione delle microfibrille

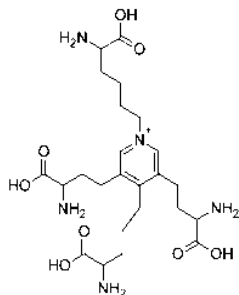
Formazione di cross-links fra le microfibrille

## Desmosina

✚ **Desmosina** è la designazione data ad un **cross-link fra tre catene laterali alisiniche ed una catena laterale inalterata di lisina dello stesso o di polipeptidi vicini.**

✚ Si trova nell'elastina, provocando un colore giallastro.

✚ E' responsabile delle proprietà gommose dell'elastina.



<http://en.wikipedia.org/wiki/Desmosine>

**POLIPEPTIDI DELL'ELASTINA E REAZIONI DI CROSS-LINKING**

A. Domini elicoidali ricchi di **lisina** separano catene casuali ricche di **residui idrofobici**.

B-C. La **lisil ossidasi** converte i **gruppi aminici della lisina in aldeidi**, che a loro volta reagiscono con altre lisine per formare **cross-links lineari semplici** oppure **anelli di 6 membri che collegano due polipeptidi**.

Pollard

### Differenze tra *collagene* e *elastina*

(A) collagen triple helix (1.5 nm)

(B) elastic fiber (stretch and relax)

cross-link

single elastin molecule

STRETCH RELAX

elastic fiber

short section of a collagen fibril (50 nm)

collagen molecule (300 x 1.5 nm)

collagen triple helix (A)

(B)

Vedi didascalia

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28438/figure/A362/>

## Differenze tra *collagene* e *elastina* [Didascalia Figura]

- ✚ 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**.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28438/figure/A362/>

## ELASTINA & PATOLOGIA – [1]

- ✚ Le **fibre elastiche** sono una delle principali classi del 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 ereditari molto gravi, che spesso mettono a repentaglio la vita, quali la **sindrome di Marfan**, la stenosi sopravvalvolare 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 un 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

