

Alveoli polmonari

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

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 « **β -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 β -turns

•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

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 **$\alpha v \beta 3$** 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 μm , 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.

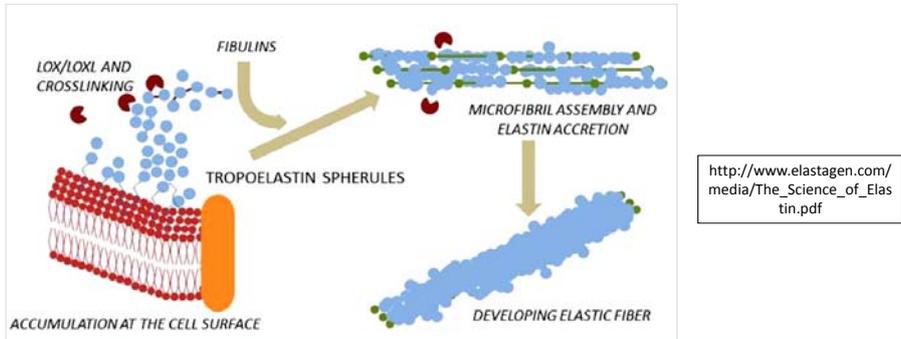
Seminario

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.

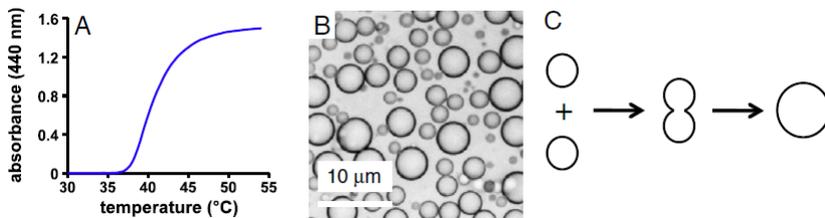
Patel D, Menon R, Taitte LJ. Self-assembly of elastin-based peptides into the ECM: the importance of integrins and the elastin binding protein in elastic fiber assembly. *Biomacromolecules*. 2011 Feb 14;12(2):432-40.

Rappresentazione schematica della formazione delle fibre di elastina

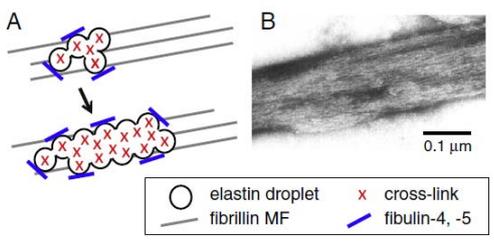


http://www.elastagen.com/media/The_Science_of_Elastin.pdf

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

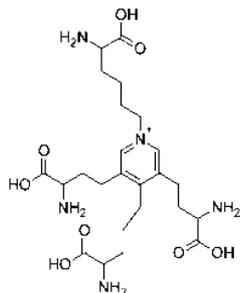
Formazione di cross-links fra le microfibrille

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 diameter)
collagen molecule 300 x 1.5 nm
short section of a collagen fibril 50 nm

(B) elastic fiber
single elastin molecule
cross-link
STRETCH / RELAX

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 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

