

41. Roth MB, Nystul T: Buying time in suspended animation. *Sci Am* 2005, 292:48-55.
42. Selhub J. Homocysteine metabolism. *Annu Rev Nutrit* 1999; 19: 217–246.
43. Shigehara T, Mitsuhashi H, Ota F, et al. Sulfite induces adherence of polymorphonuclear neutrophils to immobilized fibrinogen through activation of Mac-1 beta2-integrin (CD11b/CD18). *Life Sci* 2002; 70(19): 2225–2232.
44. Simon F, Giudici R, Duy CN, Schelzig H, Öter S, Gröger M, Wachter U, Vogt J, Speit G, Szabó C, Radermacher P, Calzia E: Hemodynamic and metabolic effects of hydrogen sulfide during porcine ischemia/reperfusion injury. *Shock* 2008, 30:359-364
45. Smith RP, Gosselin RE. Hydrogen sulfide poisoning. *J Occup Med* 1979; 21(2): 93–97.
46. Stipanuk MH, Beck PW. Characterization of the enzymic capacity for cysteine desulphhydration in liver and kidney of the rat. *Biochem J* 1982; 206(2): 267–277.
47. Swaroop M, Bradley K, Ohura T, et al. Rat cystathionine beta-synthase. Gene organization and alternative splicing. *J Biol Chem* 1992; 267(16):11455–11461.
48. Tang C, Li X, Du J. Hydrogen sulfide as a new endogenous gaseous transmitter in the cardiovascular system. *Curr Vasc Pharmacol* 2006; 4(1): 17–22.
49. Volpato GP, Searles R, Yu B, Scherrer-Crosbie M, Bloch KD, Ichinose F, Zapol WM: Inhaled hydrogen sulfide: a rapidly reversible inhibitor of cardiac and metabolic function in the mouse. *Anesthesiology* 2008, 108:659-668.
50. Warenycia MW, Goodwin LR, Benishin CG, et al. Acute hydrogen sulfide poisoning. Demonstration of selective uptake of sulfide by the brainstem by measurement of brain sulfide levels. *Biochem Pharmacol* 1989; 38(6): 973–981.
51. Whiteman M, Li L, Kostetski I, et al. Evidence for the formation of a novel nitrosothiol from the gaseous mediators nitric oxide and hydrogen sulfide. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 343(1): 303–310.
52. Yang G, Sun X, Wang R. Hydrogen sulfide-induced apoptosis of human aorta smooth muscle cells via the activation of mitogen-activated protein kinases and caspase-3. *FASEB J* 2004; 18: 1782–1784.
53. Yang G, Wu L, Wang R. Pro-apoptotic effect of endogenous H₂S on human aorta smooth muscle cells. *FASEB J* 2006.
54. Zhao W, Wang R. H₂S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002; 283(2): H474–480.
55. Zhao W, Ndisang JF, Wang R. Modulation of endogenous production of H₂S in rat tissues. *Can J Physiol Pharmacol* 2003.
56. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *Embo J* 2001; 20(21): 6008–6016.
57. Zhong G, Chen F, Cheng Y, Tang C, Du J. The role of hydrogen sulfide generation in the pathogenesis of hypertension in rats induced by inhibition of nitric oxide synthase. *J Hypertens* 2003; 21(10): 1879–1885.

ASPECTE CONTEMPORANE ÎN STRUCTURA, SINTEZA ȘI PATOLOGIIILE COLAGENULUI

Tatiana Timercan, Leonid Lisii, Ala Ambros, Irina Gavrilița
Catedra Biochimie și Biochimie clinică USMF „N. Testemițanu”

Summary

Collagen – structure, synthesis, pathologies

Collagen is the main protein of connective tissue, making up about 25% to 35% of the whole-body protein content. In muscle tissue it serves as a major component of endomysium. Collagen constitutes 1% to 2% of muscle tissue, and accounts for 6% of the weight of strong,

tendinous muscles. One of the main features of collagen is the property to form insoluble fibrils, with a great elasticity and resistance.

Rezumat

Colagenul este principala proteină a țesutului conjunctiv, constituind aproximativ 25-35% din totalul de proteine ale organismului. În țesutul muscular, el servește ca un component major al endomisiumului. Colagenul constituie circa 1-2% din țesutul muscular și deține 6% din greutatea mușchilor tendinoși. Una din particularitățile distinctive ale colagenului este proprietatea de a forma fibrile insolubile, cu o mare elasticitate și rezistență.

Structura moleculară

Tropocolagenul este subunitatea fibrilelor de colagen. Are circa 300 nm în lungime și 1.5 nm în diametru și este constituit din 3 alfa - lanțuri polipeptidice, fiecare având conformația unui helix de stînga. Aceste 3 lanțuri sunt unite într-un „superhelix”, stabilizat cu ajutorul legăturilor de hidrogen. Iar fiecare „superhelix” este asociat într-o microfibrilă de colagen, iar acestea, la rîndul lor, formează fibrilele de colagen. O particularitate distinctivă a colagenului este aranjamentul regulat al aminoacizilor în fiecare din cele 3 lanțuri. Succesiunea lor, de obicei, este: Gly – Pro – Y sau Gly – X – Hyp, unde X sau Y poate fi oricare din aminoacizi. Prolina și hidroxiprolina constituie aproximativ 1/6 din totalul aminoacizilor. Glicina ocupă fiecare a treia poziție, deoarece acest aminoacid ocupă o poziție interioară în helix, unde nu este spațiu pentru un alt aminoacid. Iar prolina și hidroxiprolina ocupă o poziție exterioară, ce stabilizează triplul helix. Frecvent se întîlnesc și alanina, hidroxilizina. În structura colagenului se conțin și unele dizaharide, glucoza, galactoza, atașate la hidroxilizină.

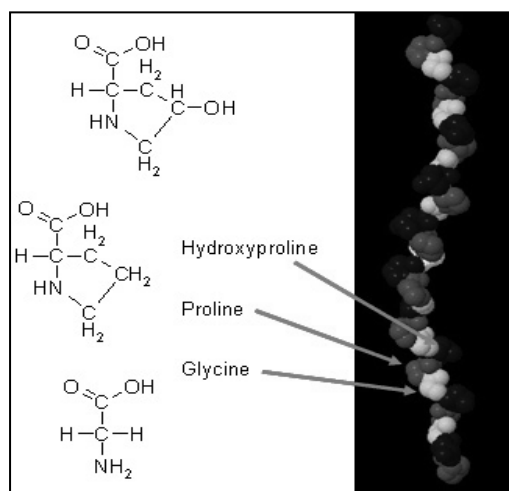


Fig. 1. Structura aminoacidică

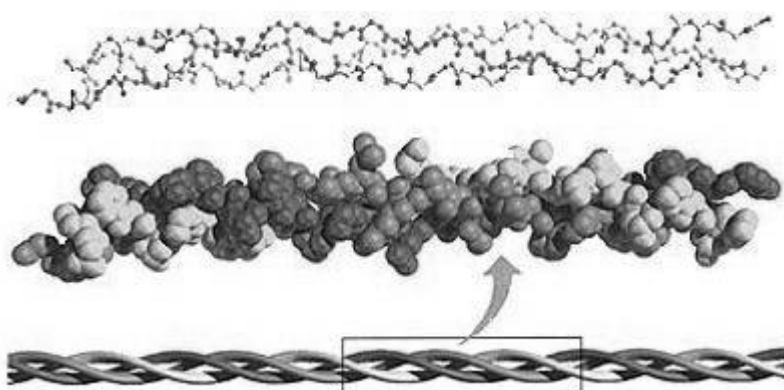


Fig. 2. Structura tridimensională a colagenului

Tipurile de colagen

Se cunosc mai mult de 28 tipuri de colagen. Circa 90% din totalul de colagen din organism îl constituie tipurile 1, 2, 3, 4:

1. Constituit din 2 lanțuri de aceeași structură (alfa1) și al treilea lanț alfa2. Este codificat de genele COL1A1, COL1A2. Se localizează în piele, tendoane, vase, ligamente, organe, oase
2. Constituit din 3 lanțuri alfa1. Codificat de genele COL2A1. Localizat în cartilaje, discuri intervertebrale, corpul vitros al ochiului

3. Format din 3 lanțuri alfa1. Codificat de gena COL3A1. Componentul principal al fibrelor reticulare. Localizat de asemenea în uter, intestine, piele
4. Format din 3 lanțuri alfa1. Codificat de genele COL4A1-6. Este localizat în membranele bazale, în cristalinul ochiului. Face parte din componența sistemului de filtrare în capilarele și glomerulii nefronilor.

Tipul 13 de collagen

Este o proteină transmembranară constituită din 3 domenii colagenice (COL 1-3) separate de către 4 domenii necolagenice (NC1-4). Un segment transmembranar hidrofob, localizat la capătul N-terminal al domeniului NC1, ancorează proteina la membrana celulară. Este răspândit în mușchi, piele, oase. Îndeosebi se întâlnește în miotendiniu, în discurile intercalare ale mușchiului cardiac. Tipul 13 de collagen participă în stabilizarea membranelor bazale și menține joncțiunile aderente în cord, ceea ce implică o posibilă interacțiune între collagenul tip 13 și matricea extracelulară. Gena tipului 13 de collagen este constituită din 41 exoni și are dimensiunea de 140 kb. Genele sunt localizate pe cromozomul 10. S-a demonstrat că succesiunea necesară pentru asocierea celor 3 lanțuri alfa depinde de porțiunile N-terminale și că formarea triplului helix are loc de la capătul N spre C. Se consideră că tipul 13 de collagen sporește creșterea neurilor.

Tipul 25 de collagen (CLAC-P: collagen-like Alzheimer amyloid plaque component precursor)

Este compus din 654 aminoacizi. Structura domeniilor și succesiunea proteinelor este parțial omoloagă celei din structura tipului 13 de collagen. Gena collagenului tip 25 este expresată specific în creier și în cantități mai mici în inimă, testicule și ochi. Porțiunea extracelulară (CLAC) este secretată prin clivaj al proteazei furinice și porțiunea terminală a CLAC este un piroglutamat modificat. CLAC este specific înconjurat de beta-peptida amiloidă și devine un component al depozitelor de amiloide în creier. Capătul N-terminal blochează atacul unui număr mare de proteaze și protejează depozitele din creier.

Sinteza de collagen

- În interiorul celulei
 1. În ribozomii atașați la reticulul endoplasmatic rugos (RER) se formează 3 lanțuri peptidice, numite preprocolageni, ce posedă peptide la ambele capete
 2. Lanțurile peptidice sunt transportate în lumenul RER
 3. Peptidele de la capete sunt clivate și lanțurile peptidice devin procolageni
 4. Hidroxilarea lizinei și prolinei are loc în lumenul RER. Acest proces este dependent de acidul ascorbic, cu rol de cofactor
 5. Are loc glicozilarea aminoacizilor hidroxilați
 6. Se formează triplul helix
 7. Procolagenul trece în Aparatul Golgi, unde este împachetat și secretat prin exocitoză
- În exteriorul celulei
 1. Se formează tropocolagenul sub acțiunea peptidazelor procolagene
 2. Mai multe molecule de tropocolagen formează fibrile de collagen, iar acestea, fibrele de collagen
 3. Collagenul este atașat la membranele celulare prin intermediul proteinelor fibronectina și integrina

Endostatinele

Endostatinele au fost izolate în 1996 din linia celulară hemangioendotelioma murinică (EOMA). Este capătul C-terminal al domeniului NC1 al tipului 18 de collagen, un fragment de 20

kDa. Se consideră a fi inhibitorul specific al proliferării și migrării celulelor endoteliale. Creșterea tumorilor primare, ca fibrosarcoma T241, EOMA, carcinomul pulmonar Lewis, prezente la șoarecii de laborator, era inhibată de administrarea sistematică a endostatinelor. În timpul tratamentului nu s-au observat toxicitate, rezistență la medicament sau reapariția tumorilor.

Endostatina este clivată la capătul C-terminal al colagenului tip 18, pentru a ceda endostatina monomerică. Clivarea este executată de proteinaze (cisteinice, serinice, catepsina L). Procesarea proteolitică a tipului 18 de colagen generează atât trimerii NC1 cât și monomerii de endostatină și ambele forme pot fi detectate în țesuturi și ser. Endostatina clivată proteolitic rămâne asociată cu membrana bazală vasculară. Endostatinele de asemenea au fost detectate în trombocite și plasmă la oameni sănătoși. Endostatina conține cisteină, zinc, arginină, care este responsabilă de atașarea ei la heparan sulfat. Molecula este stabilizată de 2 punți disulfidice intramoleculare. Nivelul fiziologic al endostatinei circulante în plasma oamenilor sănătoși este de 10-50 ng/ml.

Localizarea endostatinelor în vasele sangvine sugerează că ele au un rol regulator local în creșterea vaselor. Totuși, endostatina nu poate fi considerată ca factor principal în angiogeneză, încât deficiența de colagen tip 18 nu se soldează cu dereglări vasculare majore. Studiile au raportat nivele crescute de endostatine circulante în tipuri diferite de cancer uman. O mutație punctiformă în endostatine predispune la dezvoltarea adenocarcinomei prostatice. Sindromul Down este o dereglare a cromozomului 21, unde este localizată gena COL18A1. Astfel, pacienții dați prezintă o incidență scăzută a tumorilor și un nivel înalt de endostatină în ser. Endostatina mai participă și în motilitatea celulară, iar dereglarea ei provoacă deficiențe în migrarea celulelor neurale și non-neuronale. Endostatina, de asemenea reglează morfogeneza tisulară. S-a demonstrat rolul biologic al endostatinei ca inhibitor al angiogenezei tumorale. Lipsa acestui efect poate fi cauzat de sechestrarea endostatinei în membranele bazale, unde ea nu este accesibilă pentru interacțiunea cu receptorii celulari. Suplimentar, endostatina poate inhiba sau reduce formarea metastazelor. Endostatina induce apoptoza prin fosforilare, activează proteinkinazele A prin producerea de cAMP.

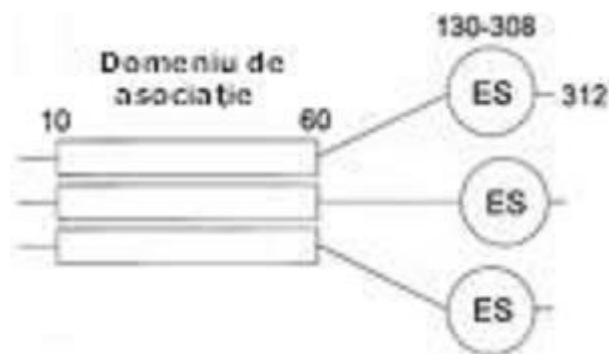


Fig. 3. Modelul schematic al structurii domeniului NC1 al colagenului 18

Structura include un domeniu de asociatie responsabil de trimerizarea non-covalentă (aminoacizii 10-60) și domeniul compact al endostatinei (ES, aminoacizii 130-308), legați printr-o regiune "balama".

Patogeneza sintetică

Deficiența de vit. C cauzează o boală serioasă, însoțită de dureri mari, în care colagenul defect previne formarea țesutului conjunctiv. Gingiile sîngerează, fiind însoțite și de procesul de pierdere a dinților. Pielea se decolorează și rănilor nu se vindecă. Dereglarea sistemului imunitar cauzează boli autoimune, în care fibrele de colagen sunt sistematic distruse prin inflamația țesuturilor înconjurătoare, ducînd la apariția bolilor Lupus eritematos și artrita reumatoidă.

Patologiile cauzate de dereglările de colagen:

- Osteogeneza imperfectă – o dereglare osoasă genetică, cauzată de insuficiența de colagen tip1. În acest caz, glicina din helix este înlocuită de cisteină, care formează o „umflătură” în triplul helix. Oasele devin moi, prezentînd un mare risc de fracturi

- Sindromul Ehlers-Danlos – cauzat de dereglări în sinteza de colagen tip1. Pacienții prezintă hiperelasticitatea articulațiilor din cauza că în ligamente lipsește colagenul normal. Acest fapt poate duce la subluxații
- Hiperostoza infantilă corticală – apare în urma unei mutații în gena ce codifică colagenul tip1. Se caracterizează prin dereglări osoase, edem la nivelul țesuturilor moi și iritabilitate
- Colagenopatii – cauzate de mutații în gena ce codifică colagenul tip2, ce duc la dereglări în dezvoltarea țesutului osos: nanism, articulații de dimensiuni mai mari, scolioze, artrite, dereglări de auz și vâz, protruzia ochilor
- Sindromul Alport – apare în urma mutațiilor la nivelul genelor ce codifică colagenul tip4. Se caracterizează prin glomerulonefrită, dereglări de auz și vâz. Membranele bazale ale rinichilor devin incapabile de a filtra produsele din sânge, lăsând să treacă în urină eritrocite și proteine

Concluzii

1. Toate tipurile de colagen conțin secvențele Gly – Pro – Y sau Gly – X – Hyp, ce se repetă și formează structura caracteristică „triplul helix”.
2. Moleculele de colagen se asociază, în final, în fibre de colagen, ce intră în componența țesutului conjunctiv. În dependență de structură și localizare în organism, sunt descrise 28 tipuri de colagen.
3. Din cauza mutațiilor la nivelul genelor ce codifică colagenul, apar patologii ale țesuturilor conjunctive, manifestate prin tulburări de creștere, mișcare, dereglări de auz și vâz.
4. Endostatina participă în procesele de angiogeneză, motilitate celulară și inhibă apariția tumorilor.

Bibliografie

1. Traub W., A. Yonath and D.M. Segal “On the molecular structure of collagen”, 1969
2. Bella J., M. Eaton, B. Brodsky and H.M. Berman “Crystal and molecular structure of a collagen-like peptide”, 1994
3. Fraser R.D., T.P. MacRae and A. Miller “Molecular packing in type I collagen fibrils”, 1987
4. Hulmes D.J. “Building collagen molecules, fibrils, and suprafibrillar structures”, 2002
5. Orgel J.P. “Microfibrillar structure of type I collagen in situ”, 2006
6. James, William; Berger, Timothy; Elston, Dirk “*Andrews' Diseases of the Skin: Clinical Dermatology*”, 2005
7. Lawrence EJ "The clinical presentation of Ehlers-Danlos syndrome", 2005
8. Caffey J “Infantile Cortical Hyperostoses”, 1946
9. Gregory MC, Terreros DA, Barker DF, Fain PN, Denison JC, Atkin CL "Alport syndrome--clinical phenotypes, incidence, and pathology", 1996

APELINA – REGLATOR CARDIOVASCULAR

Ina Marian, Veronica Motriuc

(Cond. șt.: Elena Rîvneac, dr. biol., conf. universitar)

Catedra Biochimie USMF „Nicolae Testemițanu”

Summary

Apelin – cardiovascular regulator

Reviews of the biochemical role of apelin indicate a major importance in human organism. Although currently not all the functions of this compound are investigated, it was