

4. Stevenson S. ; Nelson L. D. ; Sharpe D. T. ; Thornton M. J. - 17 β -Estradiol regulates the secretion of TGF- β by cultured human dermal fibroblasts - Journal of biomaterials science - 2008, vol. 19, no8, pp. 1097-1109
5. Takashi Kameda, Hiroshi Mano et al. - Estrogen Inhibits Bone Resorption by Directly Inducing Apoptosis of the Bone-resorbing Osteoclasts - (2010) - www.academic.research.microsoft.com
6. Thomas M., Xu X., Norfleet A.M., Watson C. - The presence of functional estrogen receptors in intestinal epithelial cells - Endocrinology January 1, 1993 vol. 132 no. 1 426-430
7. Thornton M.J. - Oestrogen functions in skin and skin appendages - June 2005, Vol. 9, No. 3 , Pages 617-629
8. Vischer U. - Estrogens and atherosclerosis: a direct protective effect on the IGH vascularwall? - European Journal of Endocrinology (1997) 137 343-344
9. www.glowm.com
10. www.sciencedaily.com

PROTEINELE ȘOCULUI TERMIC

Eduard Bobuțac, Irina Mîțu

Catedra Fiziopatologie și Fiziopatologie clinică

(Conducător științific Vasile Lutan, doctor habilitat, profesor universitar)

Summary

Heat shock proteins

The paper presents information on the history, discovery, chemical structure, classification and biological role of heat shock proteins (stress proteins) in non-specific cell resistance and the ability of these substances in pathological implications.

Rezumat

În lucrare sunt prezentate informații referitor la istoria descoperirii, structura chimică, clasificarea și rolul biologic al proteinelor șocului termic (proteine de stres) în rezistența nespecifică celulară și posibilitatea implicațiilor acestor substanțe în patologie.

Actualitatea

Importanța proteinelor șocului termic pentru știința biologică și medicină este determinată de rolul acestor substanțe în menținerea rezistenței nespecifice a celulelor la acțiunea factorilor nocivi și eventuala implicarea în practica medicală în tratamentul diferitor patologii (insuficiența circulatorie, cancer și a.).

Proteinele șocului termic (Heat shock proteins, HSP) reprezintă un grup de proteine cu structură similară, sintetizate de celule în cazul expunerii acțiunii diferitor factori nocivi din care cauză mai sunt denumite și proteine de stres celular.

S-a demonstrat, că sinteza HSP reprezintă o reacție universală adaptativă a celulei îndreptată spre creșterea rezistenței nespecifice în condiții de stres.

Istoria

Proteinele șocului termic au fost descoperite de către geneticianul Ferruccio Ritossa în 1962 în cercetările cromozomilor politeni din glandele salivare ale larvelor de Drozofila. În una din experiențe, accidental a crescut temperatura în termostat ceea ce a condus la moartea insectelor. Din curiozitate acestea nu au fost aruncate, ci au fost cercetate. S-a observat, că în unele regiuni ale cromozomilor au apărut umflături (pufuri),

dovadă a activității înalte a genelor din locusurile respective. Concomitent în celule au fost depistate și niște clase de proteine consecutiv activării acestor gene. Ulterior s-a presupus, că cauza activării genelor a fost temperatura înaltă, genele activate au fost numite “genele raspunsului la șocul termic”, iar proteinele induse de acestea au fost numite “proteinele șocului termic”.

Investigațiile ulterioare au demonstrat, că sinteza acestor proteine este o proprietate universală a tuturor celulelor organismelor vii – de la bacterii până la om. De asemenea s-a constatat că sinteza „proteinelor șocului termic” este declanșată și de alte tipuri de factori nocivi (stresogeni), cum ar fi:

- stresogeni biologici (infecțarea cu viruși, bacterii)
- stresogeni fizici (radiații ionizante, temperatura scăzută, hipoxie, inaniție, radicali liberi)
- stresogeni chimici (alcooli, metale, deviații de pH) și a.

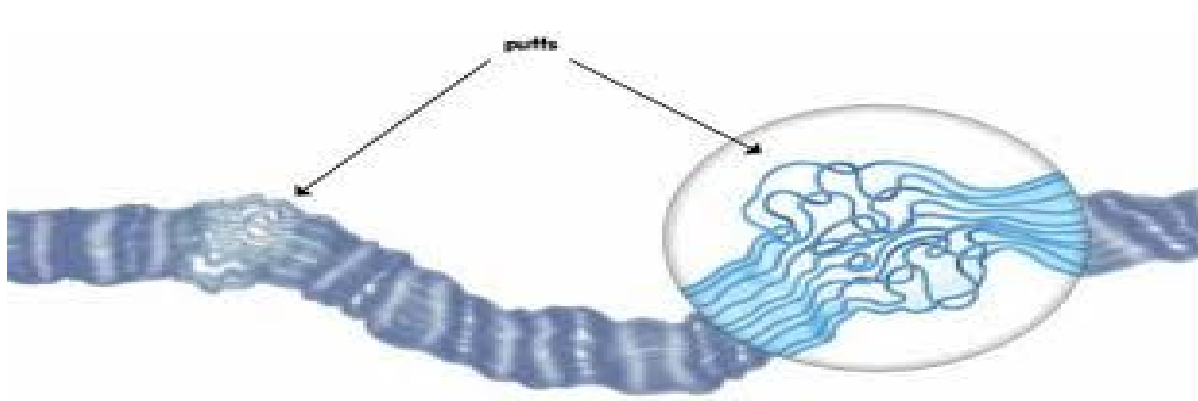


Fig. 1. „Pufurile” cromozomiale formate la acțiunea temperaturii înalte

Din aceste considerente proteinele șocului termic au mai fost numite și proteinele de stres. Investigațiile ulterioare au fost axate în direcția stabilirii mecanismului inducerii sintezei proteinelor de stres, mecanismul protecției celulei în condiții de stres celular și posibilitățile implicării acestora în creșterea potențialului antistres al celulei și utilizarea HȘP în terapia diferitor patologii.

Clasificarea proteinelor șocului termic.

Proteinele șocului termic se găsesc în citosol, mitocondrii, reticul endoplasmatic și nucleu. La mamifere cele mai studiate proteine sunt HSP 60, 70, 90 și 110 kDa, care joacă un rol important în procesele fundamentale intracelulare - de la acțiunea antiapoptotică pînă la circulația intracelulară de proteine («Тепловой шок» Магнусевская Е.К., Умудова Э.И.)

În funcție de masa moleculară HSP pot fi clasificate în:

- HSP mici
- HSP 60 kDa (GroEL)
- HSP 70 kDa (DnaK)
- HSP 90 kDa (HptG)
- HSP 100 kDa (ATP Clp)

HSP cu 60 și 70 kDa sunt numite chaperonine. HSP cu masa moleculară mică sunt ATP-independente, iar HSP cu masa moleculară mare sunt ATP-dependente.

Funcțiile proteinelor șocului termic.

Fiecare din aceste clase de proteine are o funcție specifică.

1. Clasa HSP70 (chaperonine) - în condiții fiziologice interacționează cu lanțurile de proteine nou formate pe ribozomi prevenind plierea greșită a lanțului polipeptidic imatur și transportă aceste lanțuri spre organitele celulei. Pe lângă această HSP70 sunt implicate în transportul direcțional al mai multor tipuri de kinaze în regiunile, unde acestea își vor desfășura activitatea. În așa mod HSP previn denaturarea proteinelor celulare pe traseul intracelular de la ribozomi și până la organitele de destinație, unde acestea pot fi supuse diferitor acțiuni fizico-chimice. Rolul HSP70 devine extrem de important în condiții de stress celular cu modificări grave ale mediului intracelular – hipoxie, hipo-hiperosmolaritate, acidoză, alcaloză, temperatură scăzută sau ridicată, ceea ce ar conduce la denaturarea proteinelor nou formate.

Funcțiile HSP ca chaperonine pot fi rezumate după cum urmează:

1. Coagularea lanțurilor polipeptidice imature;
2. Facilitarea trecerii proteinelor prin compartimentele celulare;
3. Modularea activității proteinei prin stabilizarea și - sau maturizarea conformației funcțional competente;
4. Suportul formării / distrugerii complexelor multiproteice;
5. Corectarea proteinelor incorect conformate;
6. Protejarea proteinelor de agregare;
7. Direcționarea proteinelor complet deformate spre distrugere;
8. Organizarea agregatelor din fragmentele proteinelor distruse;
9. Solubilizarea agregatelor de proteine pentru degradarea ulterioară.

2. Clasa HSP90 – în complex cu proteine auxiliare interacționează cu receptorii citoplasmatici ai hormonilor steroizi, asigurând legarea efectivă a hormonului cu receptorul și transportul complexului hormon - receptor spre nucleu. Aceasta asigură eficacitatea biologică a hormonilor steroizi vital necesari celulei în condiții de stress.

4. Clasa HSP60 – participă în foldingul proteinelor complicate ce conțin mai multe domene, ceea ce asigură redarea structurii tridimensionale a moleculei proteice, conformismul molecular și activitatea biologică, dependentă de stereometria celulei (de ex., a moleculelor de enzime). În caz de folding eronat, HSP efectuează re-foldingul moleculei.

De asemenea HSP participă la corecția “greșelilor” în structura proteinelor parțial denaturate, iar în caz de erori irecuperabile demarează liza proteinelor anormale, inițiind resinteza proteinelor normale. În cazul în care celula este inaptă de a sintetiza proteine normale, HSP inițiază apoptoza celulei.

De exemplu, proteinele HSP70, HSP90 sunt prezente în concentrații mari în celule nesupuse stresului, formând 1-1,5% din proteinele celulare totale, ceea ce indică o necesitate permanentă a celulei pentru a menține homeostazia conformatională a acestor proteine.

Or, stresul celular induce sinteza proteinelor șocului termic. Expresia mărită a acestora protejează celula prin stabilizarea proteinelor normale precum și prin refoldingul celor afectate. Acumulându-se în diferite acțiuni dăunătoare, proteinele șocului termic ajută celula să mențină homeostazia în condiții de stres. HSP asigură protecția împotriva alterării cromatinei.

Mecanismul general de sinteza al proteinelor șocului termic la eucariote constă în inducerea genelor proteinelor de șoc termic (HSP) prin intermediul factorului termic de șoc (HSF). Familia HSF constă din 4 tipuri de HSF, iar la om se exprimă doar HSF1, HSF2 și HSF4. HSF1 - este un activator universal stres – receptiv, iar HSF2 este responsabil de procesele de diferențiere celulară. În lipsa stresului acești factori se află în citoplasmă și nucleu în formă de monomeri care nu se pot lega cu ADN-ul. Ca răspuns la stres, HSF se asamblează în trimeri (sunt posibili homotrimeri: HSF1-HSF1 sau heterotrimeri:

HSF1-HSF2), apoi se deplasează spre nucleu unde se leagă cu porțiunile specifice ale promotorului genelor șocului termic. Ulterior are loc fosforilarea trimerilor HSF însoțită de transcrierea genelor HSP cu creșterea nivelului de HSP care formează complexe HSF-HSP.

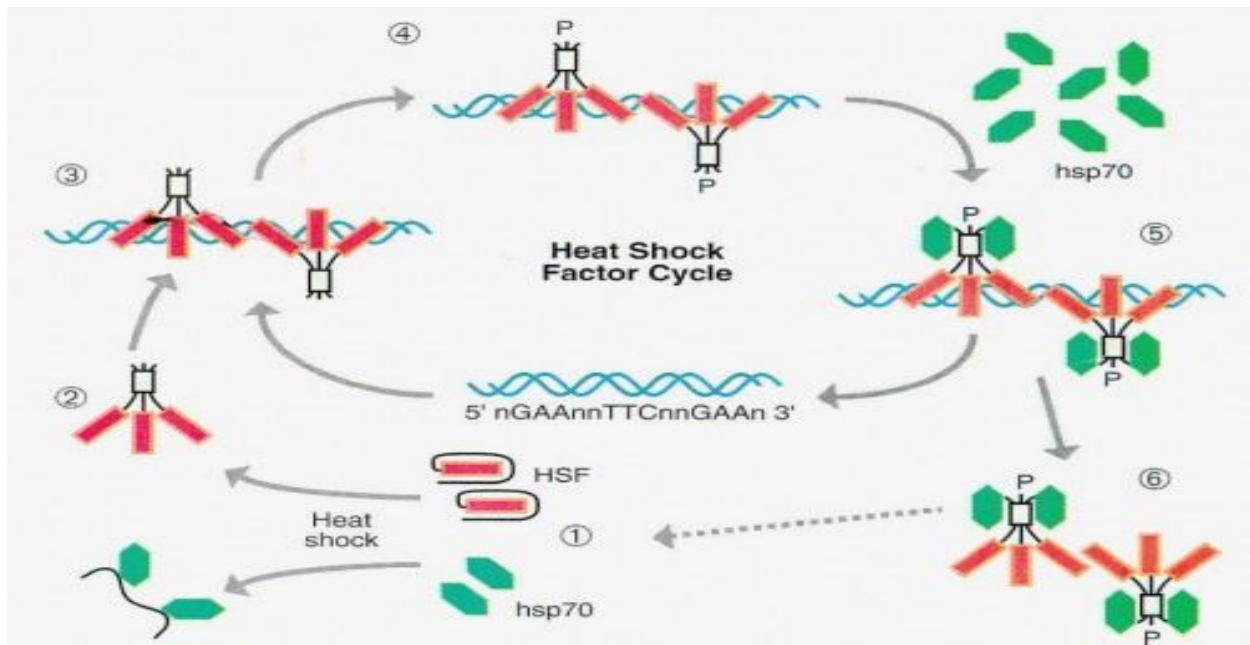


Fig. 2. Schema sintezei HSP

La sistarea acțiunii factorului stresogen HSF (în complex cu HSP) se detașează de ADN transformându-se din nou în monomeri, iar celula revine la starea inițială anestres..

Se presupune că proteinele șocului termic sunt capabile să-și regleze expresia genelor prin „bucla de autoreglare,..”. Conform acestei teorii mărirea concentrației de proteine denaturate ce au apărut în stres, duc la legarea HSP specifice de acestea și activarea HSF.

Co-chaperonele

Activitatea proteinelor de șoc termic este reglată de alte proteine numite co-chaperone, care contribuie la îndeplinirea funcțiilor de bază ale HSP. Deși multe co-chaperone sunt proteine solubile citosolice, unele dintre ele sunt localizate în membranele intracelulare sau elementele citoscheletului. Aceste co-chaperone specializate includ: auksilin, Tom70, UNC-45 omologii de Bag-1 (Young JC, Barral JM, Hartl FU (October 2003). "More than folding: localized functions of cytosolic chaperones").

Co-chaperonele îndeplinesc funcția de secreție, transportul proteinelor și formarea distrugerea complexelor proteice.

Rolul proteinelor șocului termic în patologie.

Proteinele șocului termic reacționează nu numai la stres extern, ci se manifestă și în multe patologii cum ar fi (ischemie, cancer, boli cardiovasculare și a.).

Aceasta determină un interes crescut față de HSP ca eventuale instrumente terapeutice prin dirijarea sintezei acestor proteine.

Rolul proteinelor șocului termic în ischemie.

Proprietățile citoprotective ale proteinelor din clasa HSP70 au fost demonstrate pe diferite modele de tulburări ischemice in vitro și in vivo (« Mitochondrial regulation of

apoptotic cell death. » Gogvadze V, Orrenius S. 1996, 1997, 1998, 2000, 2004, 2005). Inițial, această protecție se explica prin acțiunea HSP ca chaperonine (prin menținerea conformației normale a proteinelor și prin prevenirea agregării lor), dar apoi s-a constatat că HSP70 pot reacționa direct cu căile de apoptoză și necroză.

Ischemia cerebrală induce apoptoza prin diverse căi, iar HSP70 inhibă aceste căi.

“Calea internă” a apoptozei constă în eliberarea substanțelor apoptogene mitocondriale, deschiderea “porilor” mitocondriali și activarea caspazelor.

“Calea externă” a apoptozei constă în activarea receptorilor plasmatici membranari (Fas și TNFR) care induc apoptoza prin intermediul caspazei-8.

Proteinele HSP70 pot inhiba eliberarea citocromului c (cyt c) din mitocondrii și translocarea factorului de inducere a apoptozei (FIA) în nucleu, reducând leziunile cerebrale ischemice și, de asemenea, inhibând eliberarea proteinelor proapoptotice (SMAC DIABLO) din mitocondriile miocitelor.

În plus, proteinele HSP interacționează cu topoizomeraza 1 (reglator al apoptozei) și sunt efectori importanți ai kinazei antiapoptotice Akt/PKB.

Activarea semnificativă de către proteinele de șoc termic a glutatyon peroxidazei și glutatyon reductazei este un element esențial în mecanismul de acțiune citoprotectiv al HSP în ischemie.

Rolul proteinelor șocului termic în cancer

Proteinele de șoc termic sunt exprimate în mai multe tipuri de cancer uman și participă în proliferare, diferențiere, metastazare, și recunoașterea celulelor tumorale de către sistemul imun. Ele sunt biomarkeri utili ai carcinogenezei în anumite țesuturi și semnalează gradul de diferențiere și agresivitate a unor forme de cancer. În plus, nivelul de HSP circulante și anticorpii anti-HSP pot fi utili în diagnosticul cancerului. Expresia mărită a HSP poate fi criteriu al răspunsului la tratamentul antitumoral. De exemplu, HSP27 și HSP70 formează rezistența la chimioterapie în cancerul mamar, iar creșterea nivelului de HSP27 prezice un răspuns slab la chimioterapia leucemiei. În același timp, expresia de HSP70 sugerează efectele bune ale chimioterapiei în osteosarcom. (“Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications” **Daniel R. Ciocca and Stuart K. Calderwood**).

În dezvoltarea terapiei anticanceroase cu HSP a jucat rolul funcția lor dublă în organism: pe de o parte – funcția citoprotectoare intracelulară anti-apoptotică, iar pe de altă parte – efectul imunogen. Acest fapt a permis dezvoltarea a două strategii de bază în terapia cancerului:

1) modificarea farmacologică a expresiei HSP și activitatea lor în calitate de chaperone moleculare;

2) aplicarea HSP în vaccinuri anticancer bazate pe capacitatea acestora de a acționa ca un adjuvant imunologic. Astfel, în cadrul mai multor experiențe s-a dovedit ca animalele pot răspunde la “vaccinarea tumorală” cu sinteza de HSP în tesutul tumoral. Celulele tumorale atenuate și inoculate în cantități mici la rozătoare induce acestora imunitate la inocularea repetată a celulelor tumorale. Se presupune, că HSP pot asocia fragmente proteice de la celulele maligne moarte și prezenta sistemului imun.

Rolul HSP în procesul îmbătrânirii

Pe măsură îmbătrânirii organismul pierde capacitatea de a răspunde în mod adecvat la diferite stresuri din exterior și de a menține homeostazia. Celulele bătrâne sunt mai predispuse la acțiuni nocive și boli, și, prin urmare, odată cu vârsta crește și sensibilitatea la acești factori.

Pe parcursul vieții unei proteine stabile în ea se produc numeroase modificări post-tranlaționale. Stabilitatea proteinelor se perturbă din cauza numeroaselor acțiuni nocive –

oxidarea lanțurilor laterale, glicozilare, dezaminarea resturilor asparaginice și glutaminice, ceea ce duce la formarea de legături izopeptidice.

Sensibilitatea la leziunile proteotoxice crește din cauza erorilor în transcripție și translație și se manifestă prin defecte ale conformației proteinelor. Pentru îmbătrânire este caracteristică creșterea modificării proteinelor.

Funcțiile de chaperone se dereglează, crește necesitatea de degradare a proteinelor, dar activitatea aparatului proteolitic principal, scade cu vârsta, ceea ce duce la pericolul de glicare

Agregarea, de asemenea, este însoțită de inhibarea proteazomală și oprirea ciclului celular. Cu vârsta, dereglează și degradarea lizozomală a proteinelor (probabil din cauza suprimării lipofuscinei). Acumularea de proteine incorect conformate și slăbirea mecanismelor de protecție duce la formarea de agregate proteice care dereglează funcțiile celulare și sunt cauza a bolilor apărute cu vârsta.

Rolul HSP in bolile cardiovasculare

- Proteinele de soc termic par sa aiba un rol semnificativ in maladiile cardiovasculare, indeosebi hsp90, hsp70, hsp84, hsp27, hsp20 (“Influence of soluble mediators upon the expression of different physiological and virulence hallmarks of bacteria.” Roum. Biotech. Lett., vol. 13, 2, 3631-3642).

- Hsp90 leaga atât nitric oxid sintaza endoteliala, cât și guanilat ciclaza solubila.

O kinaza a oxidului nitric din calea de semnalizare celulara, protein kinaza G, fosforileaza o proteina de soc termic mica, hsp20. Fosforilarea hsp20 se coreleaza bine cu relaxarea musculaturii netede și este o fosfoproteina implicata in proces, fiind semnificativă in dezvoltarea fenotipului musculaturii netede.

Hsp de asemenea joaca un rol important in prevenirea agregarii trombocitare, in functionarea miocitelor cardiace și prevenirea apoptozei după leziunile ischemice, in functionarea musculaturii scheletice și raspunsul muscular la insulina.

Hsp27 este o fosfoproteina cu rol major pentru contractia tuturor grupelor musculare. Hsp27 functioneaza in migratia musculaturii netede și pare sa joace un rol integral in dinamica filamentelor de actina și adeziunea focala. S-a emis ipoteza conform careia hsp27 și hsp20 ar juca roluri in formarea punctilor incrucisate dintre actina și miozina (“Influence of soluble mediators upon the expression of different physiological and virulence hallmarks of bacteria.” Roum. Biotech. Lett., vol. 13, 2, 3631-3642).

Bibliografie

1. Anckar J, Hietakangas V, Denessiouk K, Thiele DJ, Johnson MS, Sistonen L. “Inhibition of DNA binding by differential sumoylation of heat shock factors.” Mol Cell Biol. 2006 Feb;26(3):955-64.
2. Anton Sandqvist, Johanna K. Bjork, Malin Åkerfelt, Zhanna Chitikova, Alexei Grichine, Claire Vourc, Caroline Jolly, Tiina A. Salminen, Yvonne Nymalm, Lea Sistonen “Heterotrimerization of heat-shock factors 1 and 2 provides a transcriptional switch in response to distinct stimuli.” Mol Biol Cell. 2009 Mar;20(5):1340-7. Epub 2009 Jan 7.
3. Daniel R. Ciocca and Stuart K. Calderwood “Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications”
4. Didelot C, Lanneau D, Brunet M, Joly AL, De Thonel A, Chiosis G, Garrido C. “Anti-cancer therapeutic approaches based on intracellular and extracellular heat shock proteins.” Curr Med Chem. 2007;14(27):2839-47.
5. Didelot C, Schmitt E, Brunet M, Maingret L, Parcellier A, Garrido C. „Heat shock proteins: endogenous modulators of apoptotic cell death.” Handb Exp Pharmacol. 2006;(172):171-98.

6. Gogvadze V, Orrenius S. "Mitochondrial regulation of apoptotic cell death." 1996, 1997, 1998, 2000, 2004, 2005
7. Hietakangas V, Ahlskog JK, Jakobsson AM, Hellesuo M, Sahlberg NM, Holmberg CI, Mikhailov A, Palvimo JJ, Pirkkala L, Sistonen L. "Phosphorylation of serine 303 is a prerequisite for the stress-inducible SUMO modification of heat shock factor 1." *Mol Cell Biol.* 2003 Apr;23(8):2953-68.
8. Lanneau D, de Thonel A, Maurel S, Didelot C, Garrido C. "Apoptosis versus cell differentiation: role of heat shock proteins HSP90, HSP70 and HSP27." *Prion.* 2007 Jan;1(1):53-60. Epub 2007 Jan 24.
9. Marko Kallio, Yunhua Chang, Martine Manuel, Tero-Pekka Alastalo, Murielle Rallu, Yorick Gitton, Lila Pirkkala, Marie-Thérèse Loones, Liliana Paslaru, Severine Larney, Sophie Hiard, Michel Morange, Lea Sistonen, and Valérie Mezger "Brain abnormalities, defective meiotic chromosome synapsis and female subfertility in HSF2 null mice." *EMBO J.* 2002 Jun 3;21(11):2591-601.
10. Mayer MP, Bukau B. "Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism." *Cell Mol Life Sci.* 2005 Mar;62(6):670-84.
11. Магншевская Е.К., Умудова Э.И "Тепловой шок"
12. Schmitt E, Gehrmann M, Brunet M, Multhoff G, Garrido C. "Intracellular and extracellular functions of heat shock proteins: repercussions in cancer therapy." *J Leukoc Biol.* 2007 Jan;81(1):15-27. Epub 2006 Aug 24.
13. Summers DW, Douglas PM, Ramos CH, Cyr DM. "Polypeptide transfer from Hsp40 to Hsp70 molecular chaperones." *Trends Biochem Sci.* 2009 May;34(5):230-3. Epub 2009 Apr 7.
14. Van der Weerd L, Lythgoe MF, Badin RA, Valentim LM, Akbar MT, de Belleruche JS, Latchman DS, Gadian DG. "Neuroprotective effects of HSP70 overexpression after cerebral ischaemia--an MRI study." *Exp Neurol.* 2005 Sep;195(1):257-66.
15. Young JC, Barral JM, Hartl FU "More than folding: localized functions of cytosolic chaperones". (October 2003).

SCHIMBĂRILE FIZIOLOGICE ȘI PSIHOSOMATICE DUPĂ TRANSPLANTUL DE INIMĂ

Andrei Vilijînschi

(Cond. șt. – Melniciuc Naina, asist.univ.)
Catedra Fiziologia omului și Biofizică)

Summary

Physiological and psychosomatic changes after heart transplantation

Heart transplantation is a current issue because each person has individual polymorphism. Antigenic structures of the donor heart are detected by the immune system recipient and, respectively, should be subject to particularly destruction and eliminated from the body. These processes are physiologically normal for the recipient, but they also kill him. To avoid the destruction of the transplanted heart, this article will provide alternative methods of heart transplantation.

Rezumat

Transplantul de inimă este o problemă actuală din cauza polimorfismului individual al fiecărui om. Structuri antigenice ale inimii donatorului se detectează de către structuri specifice ale sistemului imun ca fiind străine și prin urmare trebuie să fie supuse distrugerii și eliminării