

L2

Date : 08/03/12

Professeur : Pr.Mengual

Nombre de pages : 7



UE Appareil Locomoteur

Ronéo n° : 8

Intitulé du cours : Biochimie du tissu osseux (suite et fin)

Chef Ronéo : Sarah Iacono

Binôme : Kabamba (K.S)

**Corporation des
Carabins Niçois**

UFR Médecine
28, av. de Valombrose
06107 Nice Cedex 2
www.carabinsnicois.com
vproneo@gmail.com



BNP PARIBAS

Cette heure-ci sera consacrée à la suite de l'étude sur le collagène. Le collagène est important en rhumatologie, pour les problèmes de croissance et aussi ceux d'hormonologie. C'est une molécule au carrefour d'éléments de physiologie fondamentale et de certaines pathologies (notamment les problèmes de cancer).

III) PROTÉINES ASSOCIÉES AU COLLAGÈNE DANS LA CONSTITUTION DU TISSU OSSEUX

A- Protéines riches en acides sialiques

Les protéines associées au collagène (dans la constitution du tissu osseux) ont des rôles importants, ceci grâce à des protéines particulières : les protéines riches en acide sialique. C'est un élément carboxylique associé à des protéines qui apporte des charges pour donner une bonne relation avec le milieu environnant, le milieu intérieur liquide (sel) et le milieu aqueux (donc compatibilité avec les milieux dans lesquels sera impliqué le collagène soit de façon extrêmement pure, concentrée soit à faible dose). Dans les articulations majeures de l'organisme on retrouve des liquides qui sont là pour huiler celles-ci (ex le genou : articulation entourée d'un liquide concentré en collagène quasiment pur). On comprend pourquoi il y a une compatibilité et complémentarité de fonctionnalité.

B- Protéines riches en RGP

Il y a des protéines riches en arginine glycine et aspartique. Des recherches ont mis en avant le rôle du collagène dans l'adhésion cellulaire. Si on prend le cas des ostéoblastes, par obligation (par nature même), ils adhèrent à une matrice. Il y a une importance du collagène qui va aussi participer par ces protéines riches en radicaux.

Des chercheurs ont utilisé du collagène et ont forcé son déroulement via des traitements de dénaturation non destructive. Ces expériences ont montré que cette dénaturation partielle du collagène était intéressante car elle mettait en évidence le **rôle** du collagène dans **l'adhésion avec les cellules** (on a donc une adhérence des cellules grâce aux fibres de collagènes).

On voit (sur le graphe) : une mise en culture des cellules avec du collagène partiellement dénaturé et d'autres cultures avec du collagène non modifié. Sur la courbe la plus à droite, on voit la moindre fixation des cellules au collagène et sur l'autre courbe on voit bien qu'il y a une plus forte adhésion des cellules entre elles (elles sont plus regroupées).

On sait que le contact part des récepteurs intermédiaires entre les ostéoclastes et les ostéoblastes où l'on voit une activation de la **fonction ostéoclastique**. Il faut retenir le rôle de ces protéines qui sont riches en arginine glycine (on retrouve la glycine qui est présente tous les trois AA) et acide aspartique qui jouent un rôle très important. Il y a des protéines du cytosquelette ou de la membrane basale qui sont là et qui ont les capacités de connexion.

Comment aborder l'étude de ce cours ?

Il faut, d'une façon synthétique, identifier (après les pathologies) quelles sont les étapes qui nous donnent les capacités à repérer des marqueurs utiles pour le clinicien. A partir de là, on fera appel à vos connaissances en biologie cellulaire et notamment sur le métabolisme.

IV) LES PATHOLOGIES DU COLLAGÈNE

A- Liés au Génome

Il y a des pathologies qui sont associées à ces inconvénients, d'abord étapes qui sont sources de marqueurs biochimiques et qui sont actuellement demandées par les cliniciens (comme par exemple en endocrinologie ou en rhumatologie).

Les différentes étapes de synthèse du collagène ont été passées en revue, et des anomalies de la séquence du collagène ont ainsi été mises en évidence. On part toujours de la génétique au mécanisme du métabolisme et aux anomalies physiologiques qui entourent l'arrivée en bonne construction du collagène. *C'est par cette logique que l'on doit arriver à un raisonnement lors des questions d'exams.*

Le collagène : les pathologies associées, et les anomalies génétiques qui donneront des protéines qui n'auront pas la séquence. Il en résultera que le collagène généré n'aura pas les capacités à être associé. Si les séquences ne sont pas convenables, il n'y aura pas les bonnes associations entre les trois brins qui sont censées former la triple hélice et c'est comme ça que la rigidité de l'os a été démontrée comme anormale et associée à une mauvaise synthèse (et donc à une mauvaise structure).

B- Liées aux anomalies des composés biochimiques impliqués aux cours des étapes de synthèse ou de dégradation

En second lieu, on voit qu'il y a des hydroxylations. Cette hydroxylation, c'est une enzyme à laquelle on associe un certain nombre de cofacteurs qui vont réaliser : une hydroxylation sur la lysine et sur la proline. On a donc vu qu'il fallait d'autres cofacteurs (notamment vitaminiques) auxquels on pourra associer d'autres pathologies :

- Carence de synthèse de cette enzyme
- Insuffisance d'activité enzymatique

En fin de compte, l'absence de produit formé met en évidence :

- soit que l'enzyme n'existe pas
- soit qu'elle fonctionne mal
- soit qu'elle est mal structurée (site actif mal construit)
- soit l'absence de cofacteurs

Il y a aussi des glycosylations qui vont se faire sur ces hydroxyles (il a donc des réactions en conséquence

qui vont y être associés). Dans le golgi, puisque nous avons vu qu'il y a ce mécanisme là qui commence à se faire à partir de l'extrémité C-terminale et ce mécanisme là n'a pu se faire que parce que les séquences étaient convenables, les ajustements et les contraintes créés au niveau de la partie C-terminale ont été bien réalisés.

Comme on le voit sur le schéma, la présence de pont disulfures montre qu'il y avait en bonne position structurale (séquence et spatiale), capacité de faire le pont disulfure. La structuration avait des dérivés glycosylés ici et mentionné par ces petites ramifications vertes (glycosyl).

Ensuite, et seulement après, dans le sens de droite à gauche, ne peut s'initialiser la mise en hélice (conformation hélicoïdale) de ces 3 brins, sans quoi on va reconnaître qu'il y a une insuffisance due à des séquences anormales.

Il y a deux types de biomarqueurs potentiels :

- celui-ci qui lorsqu'il sera hydrolysé, puis libéré dans le milieu, va intéresser le clinicien et donc on trouve dans les laboratoires des dosages proposés pour caractériser, via des anticorps, un type de peptides qu'on appelle pro-peptides C ou N-terminale.

Donc voilà nous avons des marqueurs importants de la synthèse du collagène.

Si ces éléments sont intéressants pour la synthèse, il y a ces fragments en triples hélices qui vont s'associer et former une grosse fibre de collagène. Nous avons vu le devenir, et le rôle de ces extrémités, c'est la partie résiduelle après la peptidase qui est intervenue qui est ici un C protéase (Carboxyprotéase ou N-protéase) qui a sa spécificité.

Rappel : si ces enzymes sont insuffisantes ou insuffisamment actives, on retrouvera des pathologies.

Alors, comment démontrer que le tropocollagène est libéré au cours de son turn-over ?

Il y a un équilibre entre synthèse et dégradation et ce dosage télépeptidique est intéressant. On va la doser grâce à des anticorps. On va donc doser ces télépeptides dans le plasma ou dans le sérum (il ya eu d'autres types de dosages notamment dans les urines mais moins performants à cause de la dégradation).

Intérêt : le contrôle du métabolisme (pour l'endocrinologue ou le rhumatologue) que l'on observe aux différentes étapes de la vie. Rappel : il est important de connaître le graphique d'hier montrant que le renouvellement de l'os est très important à l'adolescence (puisque l'adolescent est en croissance), bien que le renouvellement qui se stabilise. Puis par la suite, le métabolisme phosphocalcique fait qu'il y a une plus grande libération de ces télépeptides sans forcément un renouvellement. Cet outil qu'est le dosage permet donc le suivi du patient et donc d'apprécier la quantité de ces télépeptides dans le milieu (*Cross-laps* noms dans l'industrie).

Ceci concerne des liaisons croisées du C télépeptides. On connaît la séquence d'acides aminés donc on a fait des anticorps que ce soit pour l'extrémité N-terminale ou C-terminale.

Le rôle des acides, des chaînes d'acides hyaluronique (etc), et des protéines associées est important, et concourt à la qualité de l'os et varie selon la localisation.

V) VITAMINE ET HORMONES IMPLIQUÉES DANS LA PHOSPHOCALCIFICATION DU TISSU COLLAGÉNIQUE

Nous avons vu le rôle des différentes hormones (rôle de **l'ostéocalcine** ++ dans le transport du calcium). D'où peut provenir une hyper ou une hypocalcémie ? Situation quotidienne du médecin, où là encore interviennent les dosages hormonaux.

Ici nous voyons que la vitamine D, l'hormone parathyroïdienne, ou encore la calcitonine ont des rôles respectifs (pour certaines antagonistes) et il faudra se poser la question de l'origine de cet antagonisme car l'homéostasie calcique est très importante.

Il peut y avoir des dérèglements dus à la synthèse de la parathormone qui aura des conséquences sur la synthèse de la vit D et donc le recrutement du calcium dans le milieu circulant. Au niveau du rein, il y aura aussi stimulation de l'absorption du calcium tout autant que dans l'intestin (ce sont des épithéliums fonctionnant de manière assez analogue).

N'oublions pas, en ce qui concerne la vitamine D, qu'elle a un devenir différent : elle est métabolisée d'abord dans le foie et ensuite dans le rein. Et elle peut avoir un rôle tant dans le rein que dans l'intestin. Ces éléments auront comme conséquence majeure d'augmenter la concentration plasmatique en calcium.

Lorsque l'on regarde les résultats biologiques d'un patient, on va regarder les différents ions et leurs concentrations et on se rendra alors compte des hypercalcémies et des hypocalcémies (notamment).

S'il ya des anomalies de fonctionnement de la parathyroïde ou de la thyroïde, on le reverra dans la calcémie.

A- La Vitamine D

La synthèse de la vitamine D → Outils renseignant sur le fonctionnement rénal. Certes le métabolisme phosphocalcique est contrôlé par ce biais d'analyse de dosage de la concentration en vitamine D mais aussi pour le néphrologue, ce sera un outil intéressant pour vérifier la fonction rénale et notamment le fonctionnement de la corticale.

(Sur la diapo on voit un catalogue de tous les facteurs influant sur la stimulation de la synthèse de la 1-25 Hydroxycholécalférol).

Il y a aussi mécanisme de feed back, la vitamine D (la 1-25) va rétro-inhibé ce maillon métabolique qui a conduit à sa propre synthèse. Autre conséquence : la synthèse d'une autre vitD3 (24-25hydroxycholécalférol) qui elle aura un rôle dans la fixation du Ca^{2+} par les chondrocytes (cellules aux alentours du cartilage). *Retenir les maillons métaboliques.*

On voit sur la planche qu'il y a en même temps la vitamine D qui intervient sur la stimulation de la synthèse de protéines capables de créer du Ca^{2+} , elle est associée aussi à un récepteur qui fixe l'acide rétinoïque qui est impliqué dans cette stimulation.

Des études ont été conduites sur la 1-hydroxylase et les principaux facteurs tant stimulants qu'inhibiteurs qui sont là pour rappeler le rôle clef de cette enzyme qui rend fonctionnel la vitamine D (ne pas oublier que la 1-25 est la seule fonctionnelle ++).

B- La Parathormone PTH

Le calcium extracellulaire peut jouer sur le rôle de la gastrémie qui elle (fondamentalement) a une fonction d'antagoniste de la parathormone. Elle est synthétisée comme son nom l'indique par les glandes parathyroïdiennes alors que la calcitonine est sécrétée par les glandes thyroïdiennes. Lors de dérèglements, le clinicien va essayer de «remonter» la chaîne de ceux-ci dans l'hyper/hypocalcémie.

Aspect structural à connaître de la PTH :

Initialement, la parathormone est synthétisée en tant que pro-hormone qui au cours de son propre métabolisme, va s'activer aux décours de modifications impliquant des pro-peptidases. Une fois que cette hormone intégrale de 84 aminoacides est libérée, le problème survenant est de connaître la zone la plus efficace, celle qui va être responsable de l'activité de la PTH (elle présente une durée de vie relativement faible : PTH intacte → 2 à 4 min).

La question que se pose le clinicien encore une fois est de savoir comment il va doser cette hormone. Au départ, il était préconisé l'utilisation des Ac qui donnaient une image insuffisante puisque ces Ac étaient dirigés contre la partie centrale de la PTH. Actuellement, avec l'amélioration des techniques, on propose le dosage de la PTH complète (intacte).

Cette libération de la PTH est très importante car elle va avoir pour censeur des récepteurs au Ca^{2+} . Le calcium va être le chef d'orchestre de la libération correcte de la PTH : par exemple si la calcémie est basse, il y aura un feedback de la stimulation de la libération de la PTH par les vésicules (donc une exocytose). Dans le cas contraire avec une calcémie importante, on aura une lyse de cette PTH en fragments puis son élimination.

RAPPEL : Fonctionnement d'une hormone polypeptidique, et celui d'un stéroïde de type de la vitamine D.

Ce dernier va directement (en passant par le cytosol) se fixer sur des récepteurs qui vont aller sur la stimulation du génome.

Par contre une hormone polypeptidique va intervenir sur un récepteur membranaire et la transduction du signal se fera sur d'autres protéines côté membranaire cytosolique et va déclencher la cascade d'événements : synthèse d'AMPc mais aussi libération de IP3 et de DAG. Tout ceci concourt à la libération du Ca^{2+} mais aussi, en ce qui concerne l'AMPc, cela va activer la synthèse de protéines impliquées dans cette cascade.

Cette schématisation reprend le rôle du calcium sur ces récepteurs calcium sensitif et le fait que s'il n'y a pas exocytose et libération de l'hormone dans le milieu circulant il y aura coupure de la structure de la parathormone.

Ces conditions d'action sont liées au fait qu'il y a une concentration en AMPc forte et en calcium faible (donc deux cofacteurs de ce mécanisme ont été mis en évidence). Il faut aussi savoir que la parathormone circulante agit sur les organes périphériques dont l'os et le foie où on a remarqué qu'il y avait des lyses.

Diagnostic : au niveau de la balance calcique, il faut se rappeler que le calcium est à une concentration finement constante. Il faudra distinguer le **calcium ionisé** du **calcium transporté** qui sera en réserve dans l'organisme. Et toujours se préoccuper de ce calcium mis en réserve (par exemple sur l'albumine) et le calcium ionisé.

Dans le carcinome épidermoïde, la PTH est souvent augmentée et constitue un indicateur.

On a tenté en biologie cellulaire de corréler l'étude de la différenciation des ostéoblastes et des ostéoclastes mais aussi comment ils étaient accompagnés de certains marqueurs de l'ossification comme **l'ostéocalcine** ou **l'ostéopontine**. Et on peut aussi voir à partir de quel moment le collagène est synthétisé par ces ostéoblastes (le collagène est surtout synthétisé par nature dans les ostéoblastes).

Les étapes de la différenciation des ostéoclastes : on voit quels sont les facteurs qui accompagnent cette différenciation qui conduit à la résorption du tissu osseux. Cette planche rappelle le mécanisme normal de la résorption osseuse (à connaître ++) mais aussi le rôle d'antagonistes de cette résorption. Il ne faut pas oublier que c'est le contact sur des récepteurs ou sur des bouts de récepteurs qui ont été libérés qui va générer la stimulation de ces cellules.

L'OSTEOPROGÈRINE

Marqueur de la capacité de gérer cette balance ostéoblaste/ostéoclaste, c'est la mise en évidence de l'ostéoprotégérine. Elle va participer à la régulation de la voie ostéoclastique mais peut être un jour lutté contre l'ostéoporose (fruit d'une activité intense des ostéoclastes) grâce à une molécule analogue à cette ostéoprotégérine.

Un excès d'ostéoprotégérine peut bloquer l'activité des ostéoclastes et aboutir à la formation des os dit « durs » (hyper-synthèse de collagène formant des os extrêmement durs). A l'inverse le blocage de la synthèse de l'ostéoprotégérine, on a une hyper-fragilisation (via la stimulation de la voie ostéoclastique), formant des os flasques et mous, (par exemple : lorsqu'on décalcifie un os, à l'acide chlorhydrique, on obtient un os mou). L'excès d'activité ostéoclastique détruit et fragilise l'os.

Traitement aux œstrogènes : l'activité oestrogénique diminue fortement à partir de la ménopause. Les traitements oestrogéniques sont là pour redonner une normalité à la circulation sanguine chez la femme où il ya une précocité connue.

Traitement aux biphosphonates: les biphosphonates sont connus pour bloquer la fonction ostéoclastique mais ils bloquent aussi la chaîne de la différenciation des ostéoclastes.