



KOZMETIČNI IZDELKI 1

III. KOŽA – PROTEINI

Ogrodne spojine kože

prof. dr. Julijana Kristl

Shematski prikaz zgradbe kože

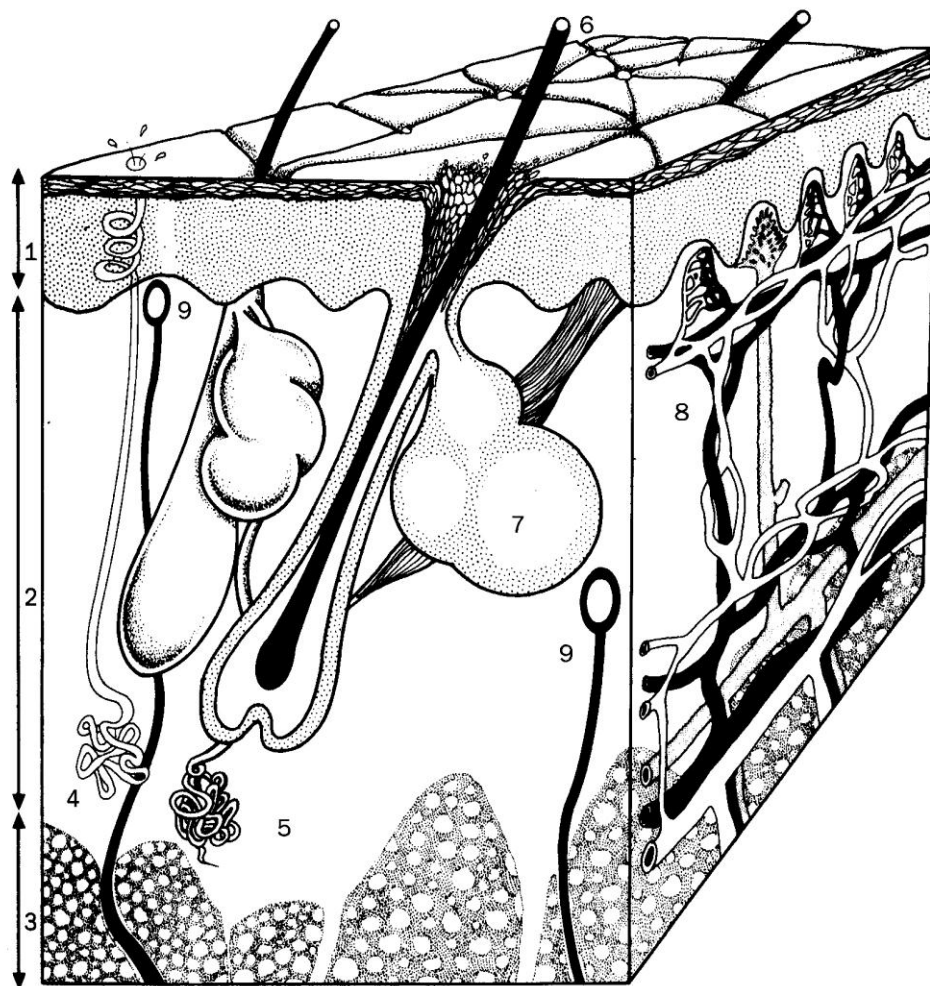
1-vrhnjica, 2-usnjica, 3-podkožje,
4-ekrina in 5-apokrina znojnica
6-las, 7-lojnica

Usnjica je prepletena s številnimi
žilami-8 in živci-9.

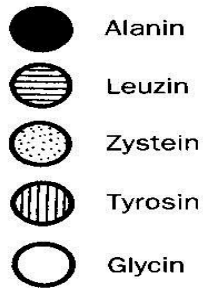
Trdnost in strukturo kože tvorijo
v prvi vrsti necelularne snovi:

v vrhnjici – keratinska vlakna

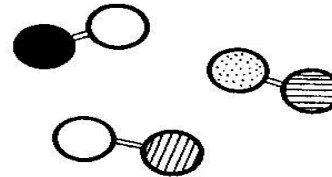
v usnjici – kolagenska in
elastinska vlakna,
proteoglikani idr.



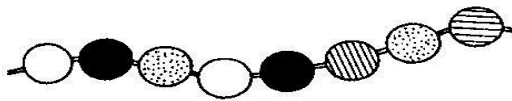
Struktura zgradba proteinov



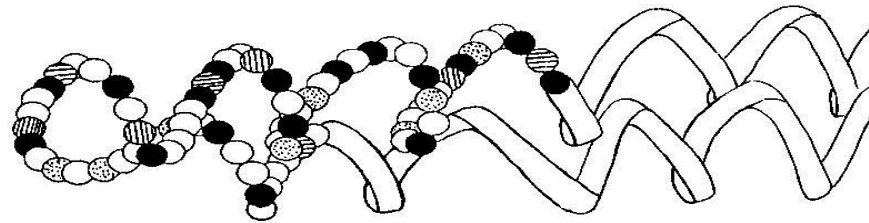
Verschiedene Aminosäuren



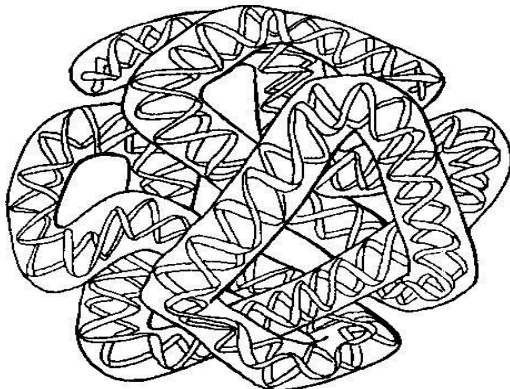
Dipeptide: Zwei Aminosäuren sind durch eine Peptidbindung verbunden.



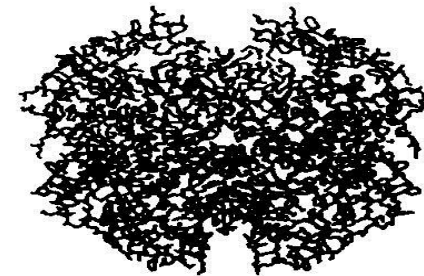
Primäre Struktur eines Proteins: «Anheften» von Aminosäuren. Die Reihenfolge der Kettenbildung — man spricht von Sequenz — charakterisiert jedes Protein.



Sekundäre Struktur eines Proteins: Das Molekül dreht sich in Form einer Doppelschraube (Helix). Dieses Eindrehen wird durch verstärkende Verbindungen zwischen benachbarten Aminosäuren der Windungen stabilisiert. Diese «Wasserstoff»-Verbindungen und andere (Disulfidbrücken) geben der Aminosäurenkette ihre spezifische Struktur.



Tertiäre Struktur: Die Helix wickelt sich zu einem Knäuel auf, wird immer kompakter und nimmt schließlich eine mehr oder weniger kugelförmige Gestalt an. Um die tertiäre Struktur besser darzustellen, wurde um die Helix der Sekundärstruktur ein Schlauch gezeichnet.

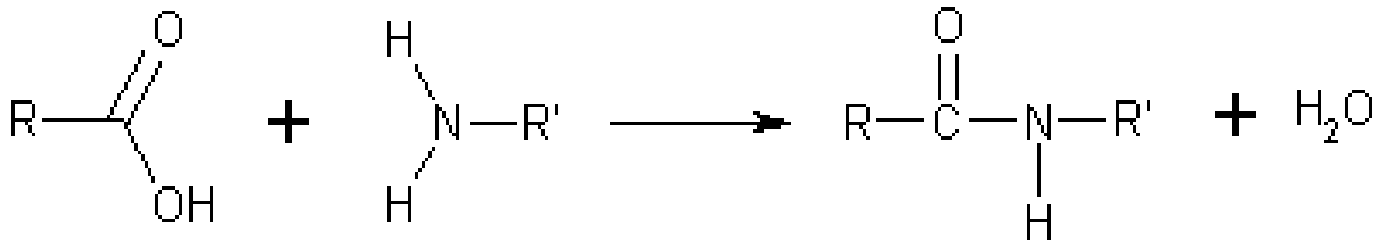


Quaternäre Struktur

Abbildung 2-7: Struktur von Proteinen



Amino kisline, peptidi, proteini



Peptidna vez , ki je kovalentna, nastane, ko se iz karboksilne skupine (-COOH) ene aminokisline odcepi hidroksilna skupina (-OH), iz aminoskupine (-NH₂) sosednje aminokislinske molekule pa vodikov ion (H⁺), pri čemer nastane voda. Proteini torej nastajajo s povezovanjem aminokislin ob odcepljanju molekul vode.



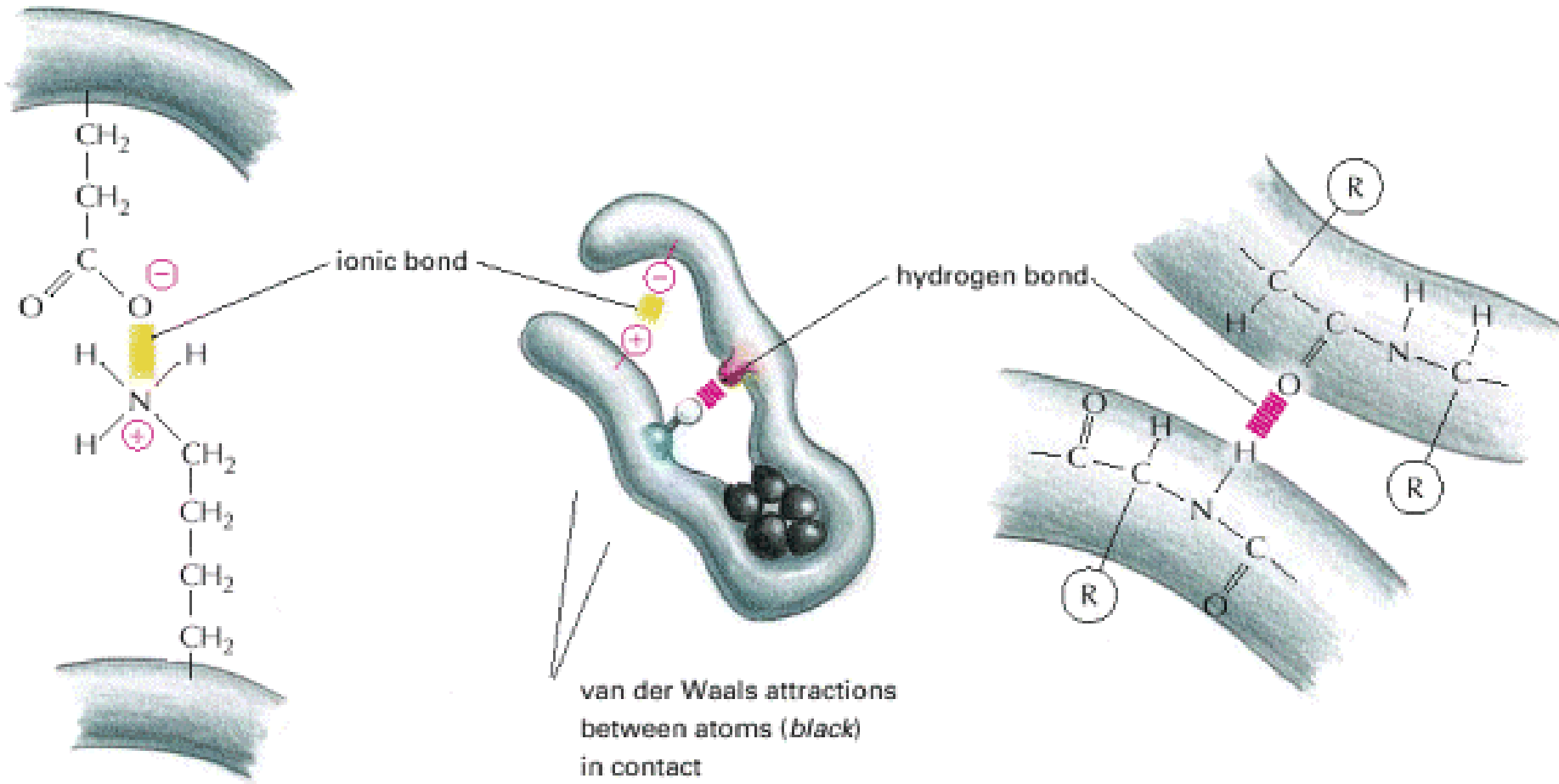
Vrste stranskih verig v amino kislinah



Kemijske vezi, ki stabilizirajo zgradbo proteinov

- Primarna struktura - kovalentna vez (peptidna)
- Sekundarna,
- Terciarna,
- Kvartarna struktura –
 - disulfidna vez (kovalentna)
 - šibke vezi
 - H-vezi 12-30 kJ/mol
 - ionske interakcije 20 kJ/mol
 - van der Waalsove interakcije 0.4 - 4 kJ/mol
 - hidrofobne interakcije <40 kJ/mol

Sile, ki stabilizirajo 3D zgradbo proteinov





Strukturna zgradba proteinov

Proteine sestavlja 20 amino kislin, ki se med seboj razlikujejo v primarni zgradbi v stranskih skupinah.

Imajo enako kovalentno ogrodje, sestavljeno iz posameznih AK, povezanih s peptidno vezjo.

- Primarna zgradba določa način zvitja in vse višje zgradbe in tako tudi funkcijo proteina !
- Stranske skupine so usmerjene tako, da so v biološkem okolju hidrofobne v notranjosti, polarne in nabite pa na površine proteinov.



Tridimenzionalna zgradba proteinov

- Glavne sile, ki stabilizirajo 3D strukturo so hidrofobne interakcije med stranskimi skupinami nepolarnih aminokislin.
- V nezvitem ("**unfolded**") **proteinu hidrofobne aminokislina ne morejo tvoriti Hvezi** z vodo. Nastane urejena struktura vode okoli polipeptidne verige, ki je termodinamsko neugodna:
 - ni stabilizirajočih interakcij med vodo in stranskimi skupinami polipeptidne verige
 - entropija vodnih molekul je zmanjšana
- Zato se proteinska veriga zvije ("**folding**") **tako, da skrije nepolarne stranske** skupine v notranjost proteina.
- Voda tvori H-vezi s stranskimi skupinami na površini proteina.
- Voda se iztisne iz hidrofobne sredice in je navadno v globularnih proteinih v sredini ni!
- Disulfidne vezi dodatno stabilizirajo 3D zvitje proteina.



Hidrofobni efekt in zgradba proteinov

Navadno je prisotna samo ena "**nativna**" konformacija, ki je **najbolj stabilna**. Vseeno ohranja tudi fleksibilnost, ki je včasih nujno potrebna. 100 aminokislin lahko zavzame 5×10^{47} različnih **konformacij**

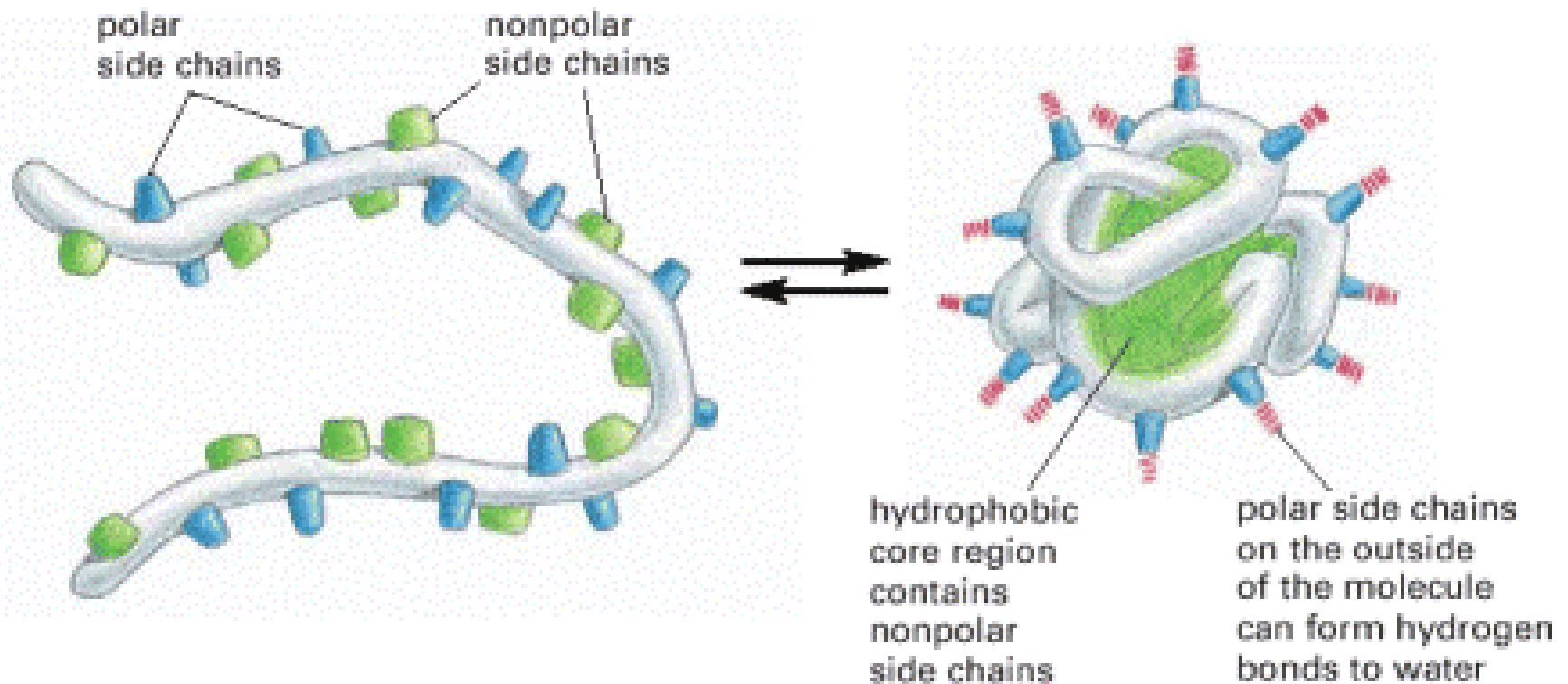
Zvijanje proteina je postopno. Prične se s tvorbo lokalne sekundarne strukture in strukturnih motivov (iniciacijska jedra). Preostala veriga se zvije okoli teh jeder. Zvijanje je kooperativno (vsak korak olajša tvorbo ugodnih interakcij).

In vivo zvitje proteinov:

- spontano- samo na osnovi primarne zgradbe
- pomoč drugih molekul- **molekularni šaperoni**.

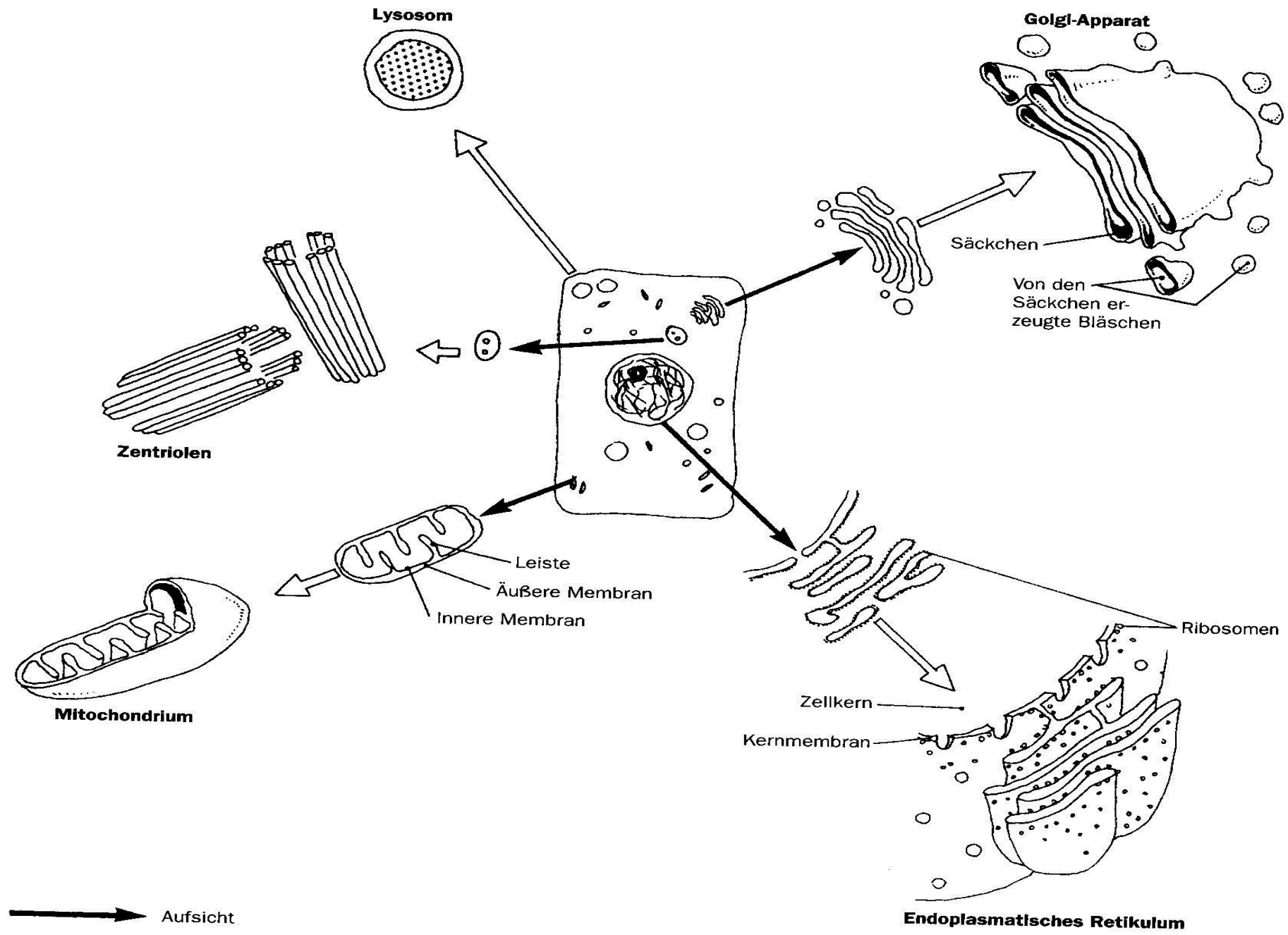
Vežejo nezvito ali delno zvito polipeptidno verigo in preprečijo neugodne hidrofobne interakcije med izpostavljenimi deli. Imajo nizko specifičnost.

Nezavita in zvrta zgradba proteinov



Nezavita veriga

folded conformation in aqueous environment

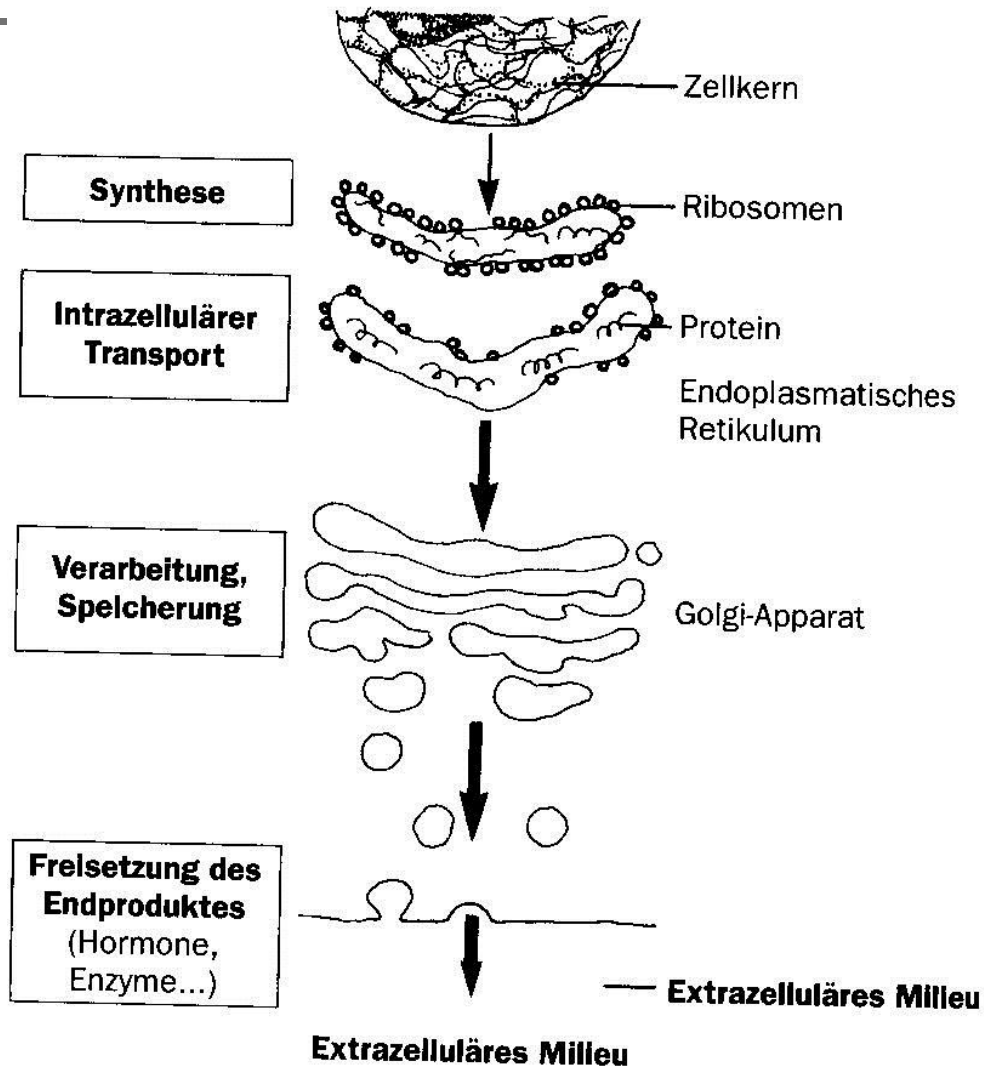


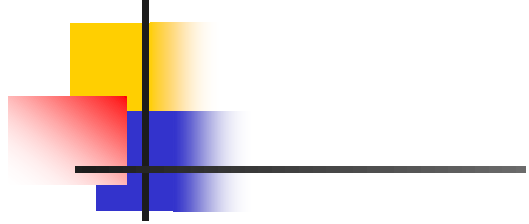
→ Aufsicht

→ Räumliche Darstellung

Sinteza proteinov

Protein synthesis and transport pathway diagram



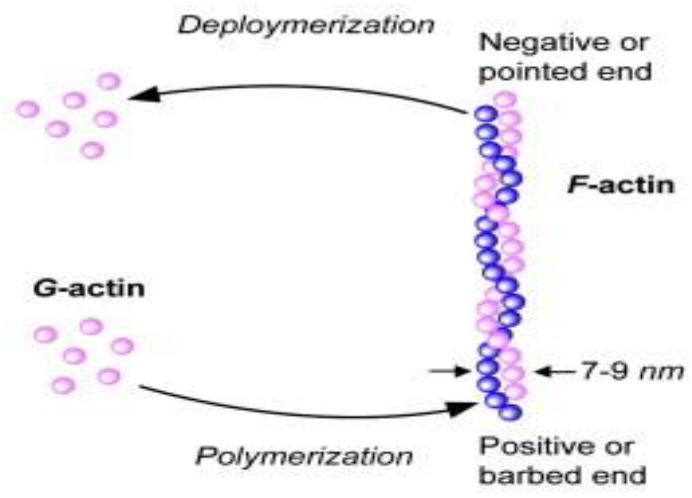


Keratsinska vlakna

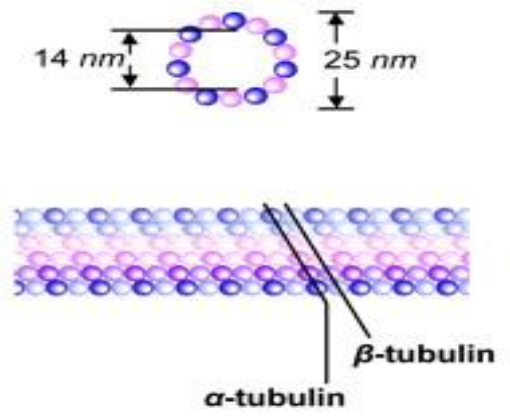
Keratini so največja skupina intermediatnih filamentov, ki jih sestavlja 30 razl. proteinskih verig.

MM keratinov 55-68kDa; Kisli tip I. Nevtralen-bazični tip II

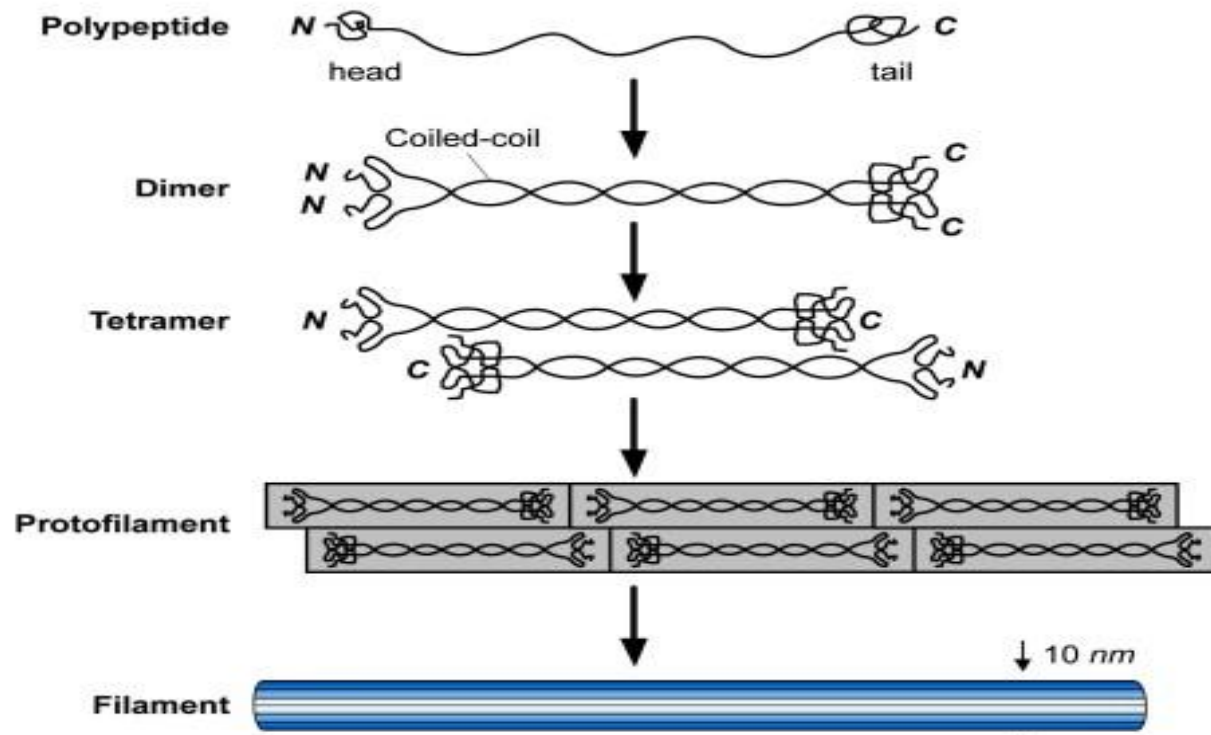
a Actin Filament



b Microtubule



c Intermediate Filament





Proteini stratum corneum -1

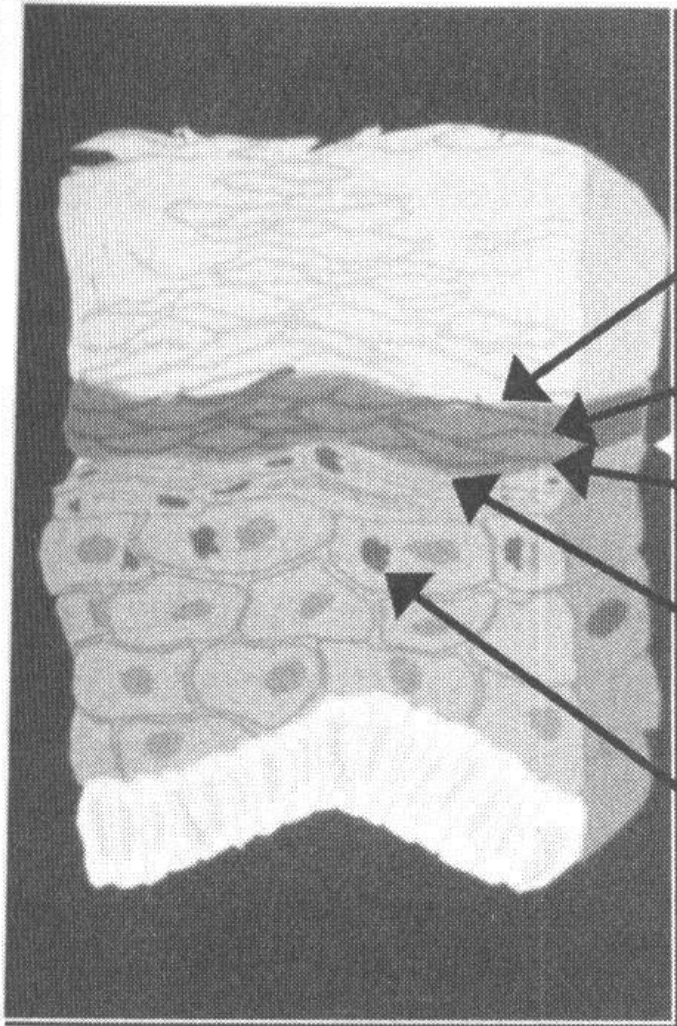
- Z diferenciranjem bazalnih celic postanejo le-te vse bolj specializirane in med pomikanjem navzgor tvorijo velike količine keratiniziranih strukturnih proteinov, ki tvorijo zaščitno zunanjo plast kože. To se zgodi le, če je prisoten novo odkrit protein kDIF, ki je odgovoren za celično diferenciacijo.
- V stratum granulosum najdemo keratohialinska zrnca, ki jih sestavljajo **profilagrini**, s cisteinom bogati, fosforilirani proteini z MM 450-500kDa, kot keratin 1 in keratin 10. Pri prehodu keratinocitov iz granularne plasti v stratum corneum – pretvorba v korneocite v pribl. 6 urah, se defosforilirajo in hidrolizirajo ter nastanejo **filagrini** z MM 30-48 kDa. Encimska odcepitev fosforne skupine predstavlja pri diferenciranju keratinocitov proces, ki sproži zaroženevanje.
- Profilagrini so eni izmed najbolj proteazno občutljivih proteinov.
- Med diferenciranjem korneocitov *nastanejo tudi t.i. pokrovni proteini*, npr. **involucrin**, ki ima kemično inertno zgradbo in tvori ovojnico korneocitov.



Proteini stratum corneum -2

- Filagrinske podenote profilagrina povežejo keratinske molekule v keratinska vlakna, ki vodijo do ireverzibilnega zaroženevanja, kar je odvisno od številnih signalov, ki jih zaenkrat še odkrivajo. En tak signal, ki sproži proces je gradient Ca^{2+} (višji v zg. granul. plasti.), ki sproži hitro transformacijo granulocitov v korneocite (v 5-6h).
- Mehanizem citoplazmatske razgradnje vključuje aktivacijo številnih proteaz.
- Filagrini (filament aggregating proteins) se v stratum corneum cepijo in v AK, ki skupaj z organskimi kislinami in solmi iz znoja tvorijo naravni vlažilni faktor (NMF) na koži.

Od profilaggrinov do filaggrinov



Filaggrin cleaved and processed into NMF

Filaggrin binds to keratin and survives protease activity

Linker peptides cross linked into cell envelope

Profilaggrin dephosphorylated and linkers cleaved

Profilaggrin synthesized and accumulates in keratohyalin granules

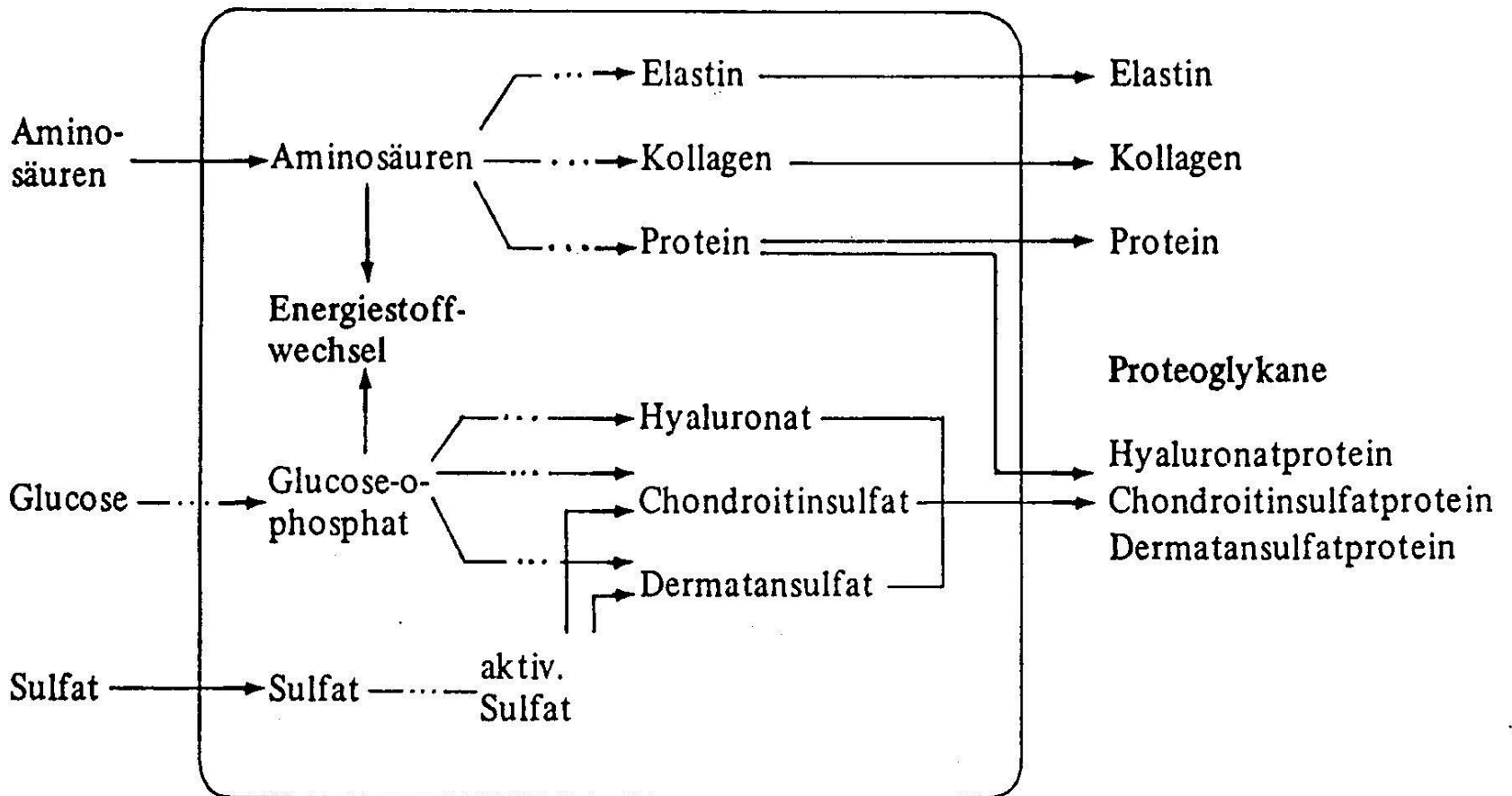
Sinteza v fibroblastih kože

BLUT

HAUTFIBROBLAST

HAUTFIBROCYT

EXTRAZELLULÄRRRAUM





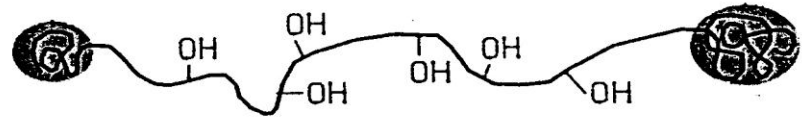
Biosinteza tropokolagena

Kolageni predstavljajo 90% proteinov kože in 30% organizma. Sestavljajo jih AK glicin, prolin in OH-prolin, druge AK

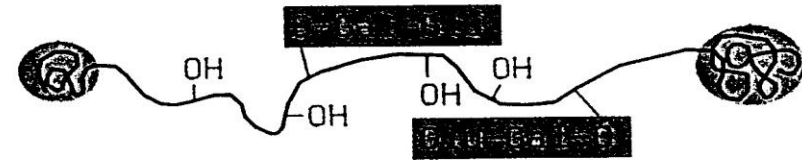
1. Biosynthese von Procollagen-Einzelsträngen



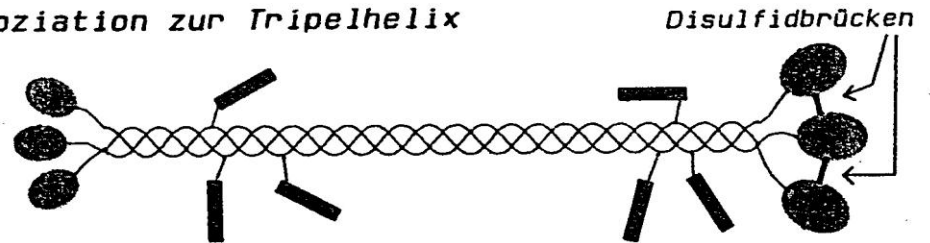
2. Hydroxylierung von Prolin und Lysin



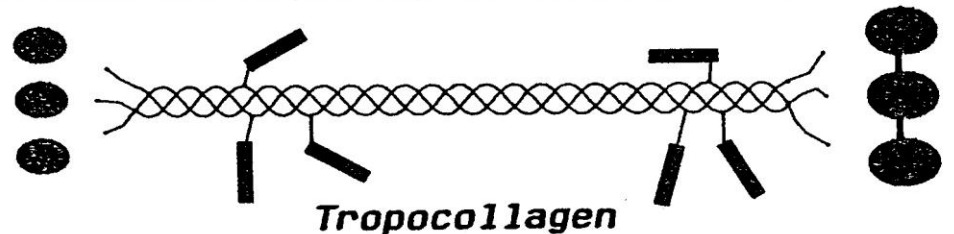
3. Glykosylierung



4. Assoziation zur Tripelhelix



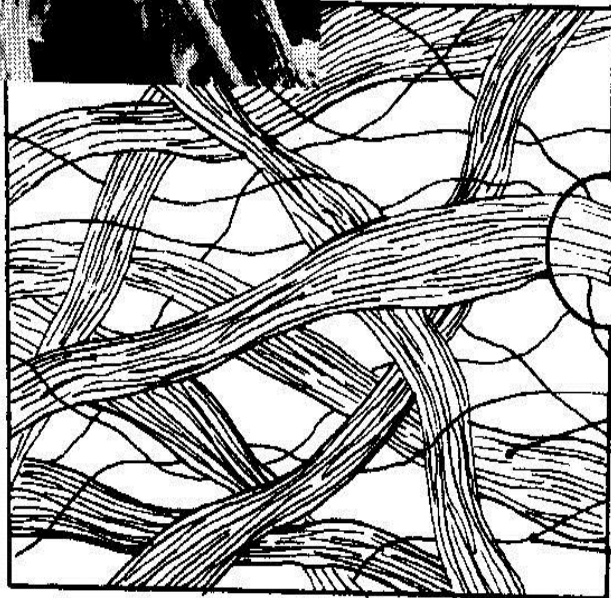
5. Sekretion und Abspaltung der terminalen Peptide



Izven celična mreža



Ansicht unter dem
Rasterelektronenmikroskop

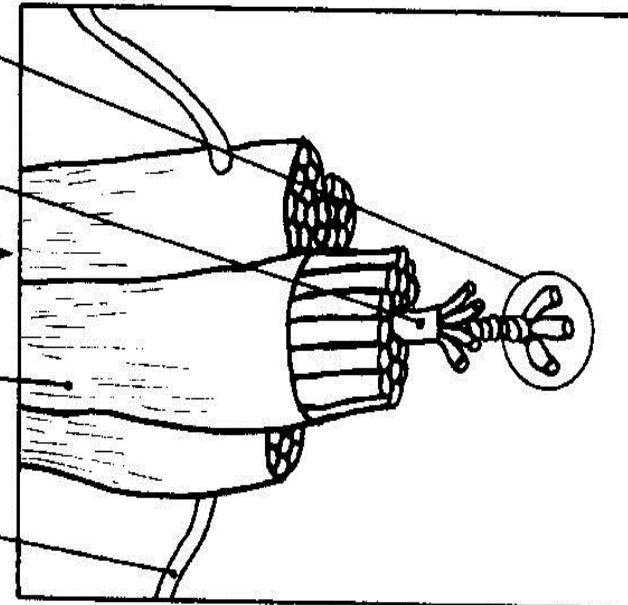


Tropokollagen

Kollagenfaser

Kollagenbündel

Elastische Faser



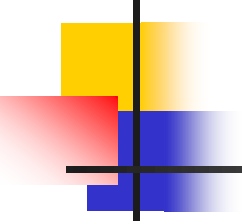


Kaj sestavlja izven celično ogrodje usnjice?

družina vrsta

specifične makromolekule

1	kolageni	vrste I, III, IV, V, VI, VII, VIII, XII, XIII, XIV
2	elastini	molekularna heterogenost z alternativnimi enotami
3	proteoglikani	dekorin, biglican, HSPGs
3	glikosaminglikani	hialuronan, chondroitin sulfat 4 in 6, dermatan sulfat, heparan sulfat
4	strukturni glikoproteini	fibronektin, laminin, mikrofibrilarni glikoproteini povezani z elastinom, fibrilin in drugi

- 
-
- **Elastin** je ogrodni protein veznega tkiva z izrazito elastičnostjo.
 - **Fibronektin** je tudi strukturni protein veznega tkiva, ki igra pomembno vlogo pri pripenjanju fibroblastov na izven celične ogrodne proteine. fibronektini imajo na površini specifična vezna mesta za kolagen, fibrin, proteoglikane, celice



Proteoglikani

- so glukozamini povezani z najman enim specifičnim ogrodnim proteinom. Preko fibronektina so proteoglikani povezani v kolagensko mrežo.
- Proteoglikani vežejo izredno veliko količino vode, ker vsebujejo $-OH$, $-COOH$, $-SO_4$.
- Biosinteza poteka v fibroblastih dermisa.
- Struktura proteoglikanov dermisa še ni znana.
- V nasprotju s kolagenom se proteoglikani v dermisu neprestano razgrajujejo in na novo nastajajo.
- Disaharidne enote kislih glukozaminoglikanov v koži
 - hondroitinsulfat
 - dermatansulfat,
 - hialuronska kislina, heparinsulfat
 - hialuronat, katerih sestavina so (N-acetilgalaktozamin ali N-acetilglukozamin), idr.



Integrini

- integrini so heterodimerni glikoproteini, ki jih sestavljata alfa- in manjša beta podenota, povezani nekovalentno, da tvorita vezavno mesto.
- Sodelujejo pri medcelični adheziji in adheziji celic z izvenceličnim ogrodjem.



Katere proteinske molekule še najdemo v koži, ki niso v vlogi ogrodnih proteinov?

- Metaloproteinaze in
- drugi encimi



Spremembe izvenceličnega ogrodja

- Metabolizem vezivnega tkiva vključuje tako razpad proteinov izvenceličnega ogrodja kot tudi sintezo novih spojin v ogrodju. Obe poti morata biti za normalno fiziološko funkcijo tkiva dobro regulirani. Razpad vezivnega tkiva in bazalnih membran je prisoten med celjenjem ran, angiogenezo, invazijo tumorjev in metastazo. Poznamo več tipov encimov, ki razgrajujejo različne komponente ogrodja. Razdelimo jih lahko v tri skupine proteaz na osnovi katalitskega centra:
 - serini,
 - cisteini,
 - metaloproteinaze.

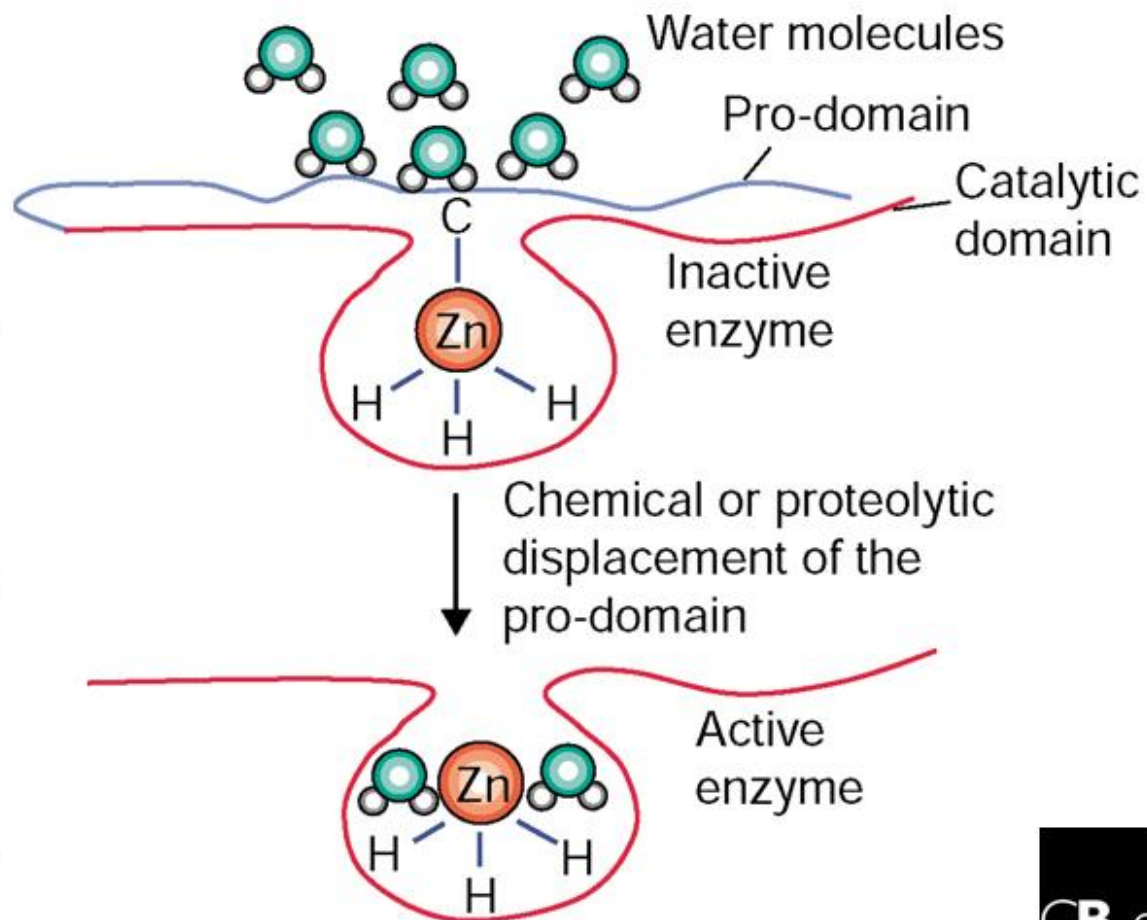
Te proteaze imajo večinoma specifične substrate



Metaloproteinaze

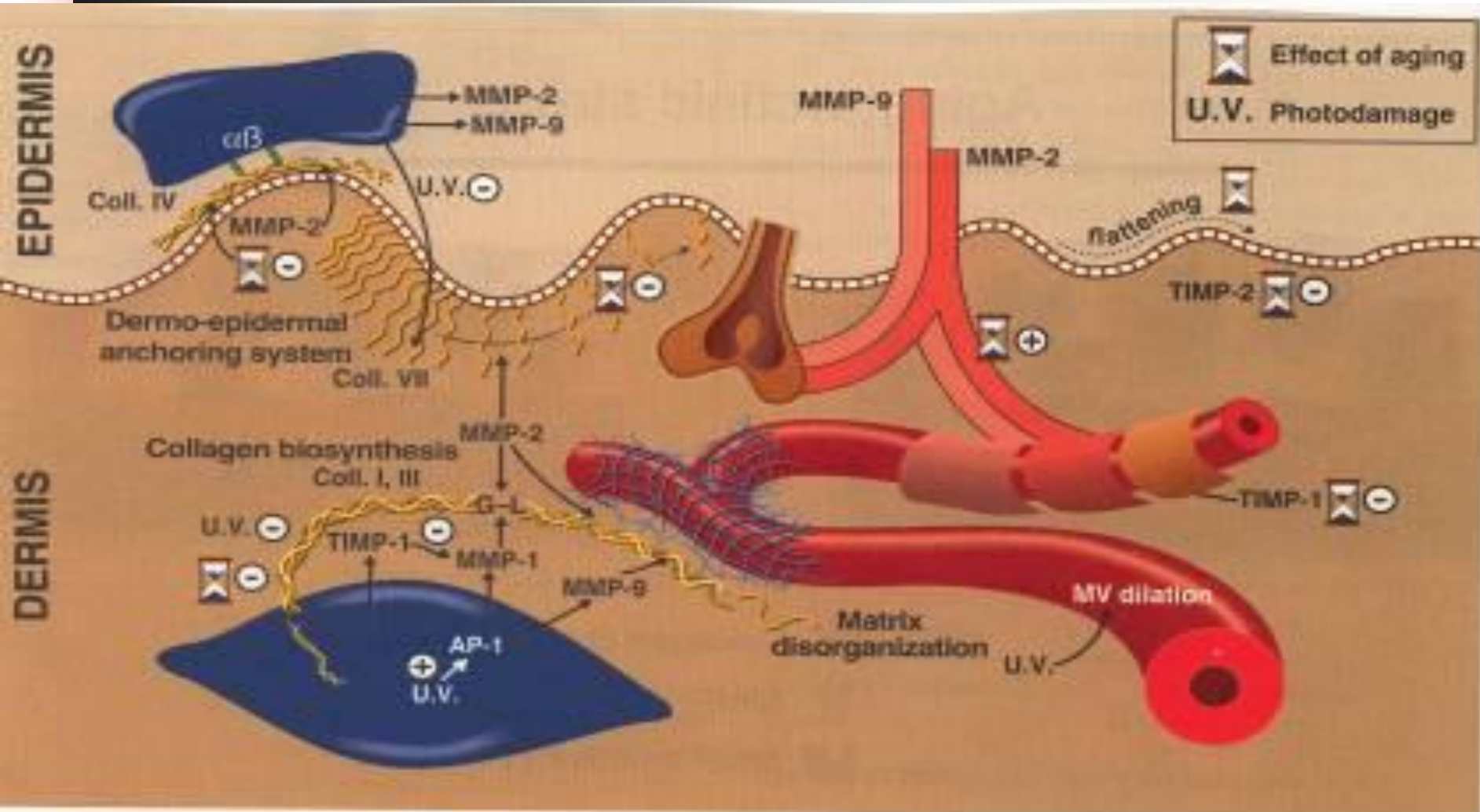
- so encimi, ki cepijo peptide. Aktivno mesto predstavlja na proteinsko molekulo vezan kovinski ion, skoraj vedno cink, ki aktivira molekulo vode, ki nukleofilno napade karbonilno skupino peptida.
- Med substrate metaloproteinaz v koži, natančneje v izvenceličnem ogrodju, prištevamo različne proteine kot na primer različne vrste kolagena, elastin, laminin, fibronektin.
- Ločino pet podrazredov MMP: ● intersticijske kolagenaze, ● gelatinaze, ● stromelizine, ● MMP membranskega tipa, ● elastaze.

Kristalna struktura MMP in prehod enzima iz ne-aktivne v aktivno obliko



The crystal structure of human matrix metalloproteinases (MMP-2).

Vpliv metaloproteinaz v vrhnjici in usnjici na celične in molekularne mehanizme





Literatura

- E. Heymann,
Haut, Haar und Kosmetik, 2. Auflage Verlag
Hans Huber Bern, 2003, 18-33.