

Dr Eric Piaton
Année universitaire 2021-22

Deuxième partie : les macromolécules du tissu conjonctif

Les macromolécules du tissu conjonctif sont représentées par les polysaccharides d'une part, et par les protéines et glycoprotéines d'autre part. Ces macromolécules sont produites localement par les cellules et s'accumulent de façon plus ou moins orientée dans la matrice extracellulaire (DIAPO 7). On en distingue deux grands groupes :

- Les chaînes polysaccharidiques constitutives des glycosaminoglycans (abrégé : GAGs)
 - o Ces dernières sont généralement liées de façon covalente à des glycoprotéines pour former des protéoglycans (abrégé : PGs),
- Les glycoprotéines et les protéines fibreuses

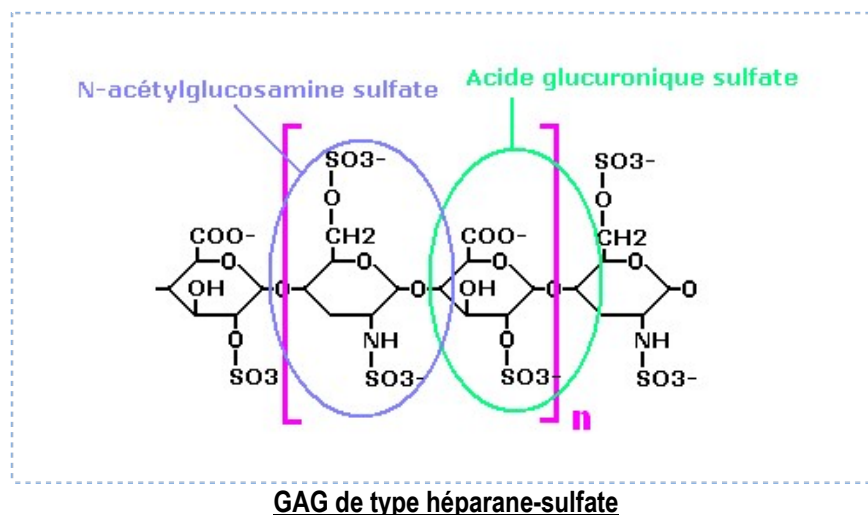
A. Les glycosaminoglycans

Les glycosaminoglycans (GAGs) sont de longues chaînes polysaccharidiques non ramifiées formées d'unités disaccharidiques répétées.

Le modèle le plus fréquent est de type [glucide aminé-acide uronique]_n. Dans ce cas de figure, un des deux résidus glucidique est un glucide aminé de type N-acétylglucosamine ou N-acétylgalactosamine, le plus souvent porteur de plusieurs groupements sulfatés SO₃⁻. Le deuxième sucre est un acide uronique de type acide glucuronique ou iduronique, lui-même sulfaté (sauf dans le cas de l'acide hyaluronique).

On distingue cinq grands groupes de GAGs selon a) les sucres présents, b) le positionnement des sulfates :

1. Les GAGs de type acide hyaluronique (non sulfaté),
2. Les GAGs sulfatés comprenant :
 - Les GAGs de type chondroïtine-sulfate,
 - Les GAGs de type héparane-sulfate,
 - Les GAGs de type dermatane-sulfate,
 - Les GAGs de type kératane-sulfate.



Seuls les GAGs sulfatés sont susceptibles d'établir des liaisons covalentes avec des glycoprotéines pour former des PGs.

Les GAGs sulfatés sont des molécules fortement hydrophiles à cause de leurs nombreuses charges électro-négatives : groupements carboxyles COO^- et sulfates SO_3^- . Les charges électro-négatives attirent des cations comme le sodium Na^+ , qui lui-même attire par effet osmotique de nombreuses molécules d'eau.

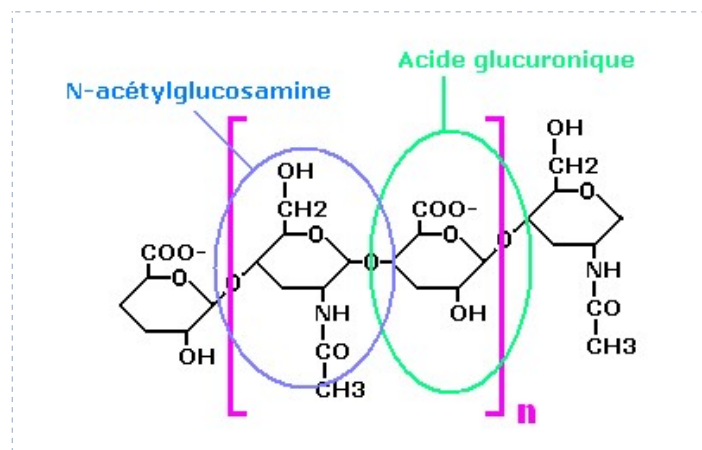
Les GAGs, sulfatés ou non, adoptent des conformations spatiales très étendues (ils remplissent un grand volume par rapport à leur masse). Même à faible concentration, ils forment en milieu aqueux des solutions d'aspect gélatineux. Cette conformation est responsable de certaines des propriétés du tissu conjonctif :

- Résistance aux forces de compression
- Elasticité
- Viscosité

Pour exemple, le poids des GAGs est généralement inférieur à 10% du poids des protéines fibreuses bien qu'ils remplissent la plus grande partie de l'espace extracellulaire.

L'acide hyaluronique

L'acide hyaluronique (AH) est un exemple de GAG non sulfaté formé de séquences disaccharidiques répétées de N-acétylglucosamine et d'acide glucuronique : plus de 25.000 répétitions forment une longue chaîne qui s'enroule. Elle n'est pas liée de façon covalente à des glycoprotéines.



Acide hyaluronique : pas de groupements sulfate

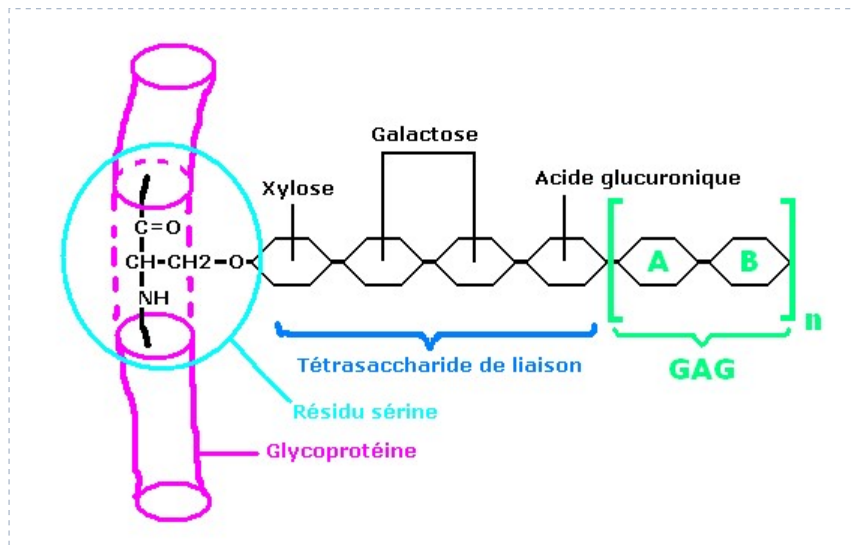
L'AH joue un rôle important depuis le développement embryonnaire et fœtal jusqu'à l'âge adulte. Dans les premières semaines du développement, l'AH est très abondant dans le mésenchyme embryonnaire où il joue le rôle d'espace de diffusion pour les petites molécules et pour les cellules, à un stade où le réseau circulatoire n'est pas encore développé.

Lors de la mise en place des principaux organes et appareils et au fur et à mesure du développement de l'appareil circulatoire, l'AH produit en excès est dégradé par la hyaluronidase.

Chez l'adulte, l'AH joue un rôle important dans la résistance mécanique aux forces de compression. Ceci est particulièrement net au niveau du cartilage articulaire (genou, articulations du pied...). L'AH est présent en abondance dans le liquide articulaire où sa viscosité joue un rôle de lubrifiant et de facilitateur du mouvement.

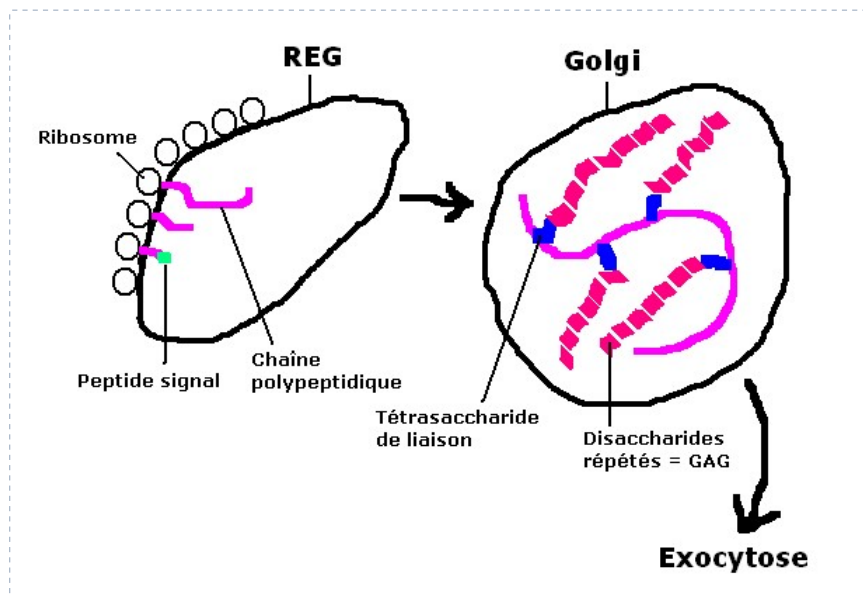
B. Les protéoglycanes

Tous les GAGs sauf l'acide hyaluronique sont reliés de façon covalente à des glycoprotéines, par l'intermédiaire d'un tétrasaccharide de liaison, pour former des protéoglycanes (PGs). Les PGs sont différents des autres glycoprotéines par la nature et le nombre de leurs chaînes sucrées latérales.



Liaison d'un GAG avec la glycoprotéine, formant un protéoglycane

La fraction protéine des protéoglycanes est synthétisée dans le REG et les adjonctions glucidiques se font dans l'appareil de Golgi (schéma).



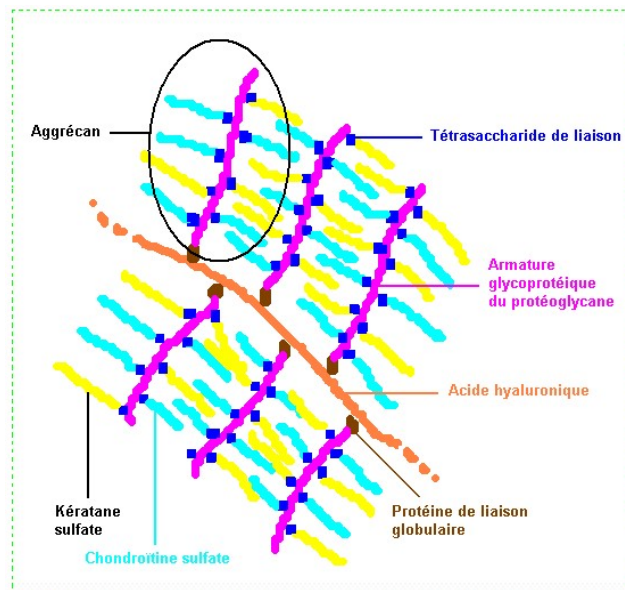
Biosynthèse des protéoglycanes

Les PGs sont des macromolécules très hétérogènes à cause de plusieurs facteurs :

- La partie glycoprotéique peut avoir un PM variant de 10 kDa à plus de 600 kDa,
- Les glycoprotéines peuvent contenir de 1 à 60% environ de glucides,
- Les disaccharides de base des GAGs sont très variables et sont plus ou moins sulfatés.

Les PGs peuvent s'associer pour former d'énormes complexes macromoléculaires dans la MEC.

L'aggrécane qui est le principal PG du cartilage comporte une centaine de GAGs formés à la fois de chondroïtine-sulfate et de kératane-sulfate. Il s'assemble par l'intermédiaire de glycoprotéines de liaison à de longues molécules d'acide hyaluronique. Le PM résultant de l'ensemble peut atteindre 10^8 Da ou plus et une taille de plusieurs microns (comme une bactérie).



Aggrécane associé à l'acide hyaluronique

C. Les collagènes

Les collagènes représentent une famille de glycoprotéines fibreuses très répandues dans les organismes pluricellulaires. Elles sont sécrétées par les cellules du tissu conjonctif (fibroblastes et fibrocytes, ostéoblastes et ostéocytes, adipocytes...) et d'autres types cellulaires y compris les cellules épithéliales. Ils représentent dans leur ensemble jusqu'à 25% de la masse protéique des mammifères.

Les collagènes sont formés de trois chaînes polypeptidiques nommées chaînes alpha arrangées en superhélice. Il s'agit d'une triple hélice régulière différente de l'hélice alpha.

Les collagènes sont riches en glycine et en proline. Leur formule générale est Gly—Pro (le plus souvent)—X, le troisième acide aminé étant variable. La proline, avec sa structure en anneau, stabilise l'hélice de chaque chaîne alpha. La glycine (plus petit AA), répartie tous les trois acides aminés autorise un enroulement optimal de la chaîne alpha.

Les principaux types de collagène sont :

- Les collagènes fibrillaires qui forment des fibrilles avec alternance de bandes claires et sombres visibles en ME, liées à l'arrangement régulier les molécules de collagène dans l'espace extracellulaire. Il s'agit des collagènes I (principal collagène du derme et du tissu osseux), II, III (fibrilles de réticuline), V, VII (fibrilles d'ancrage dans les basales) et XI,
- Les collagènes associés aux fibrilles qui recouvrent la surface des fibrilles de collagène : il s'agit des collagènes IX et XII principalement,
- Les collagènes en réseau dont le plus abondant est le collagène de type IV présent dans la lamina densa des basales.

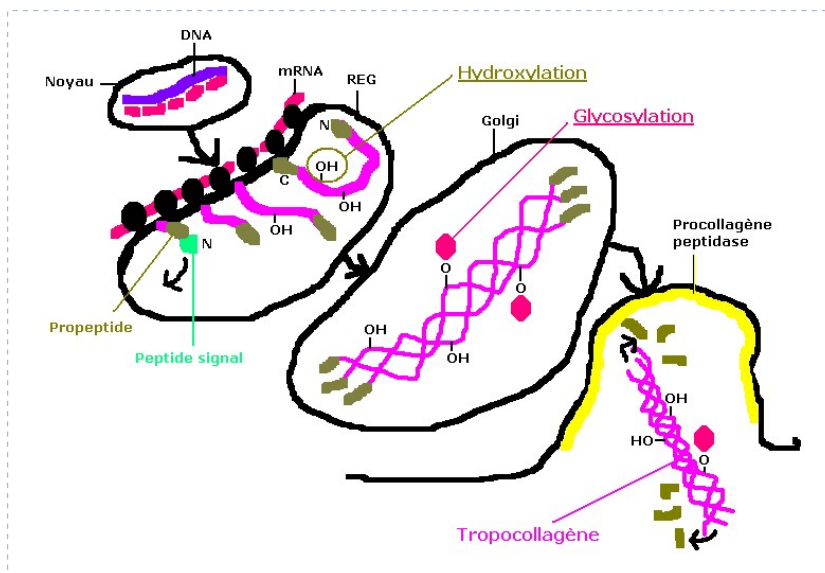
Toutefois les collagènes sont nombreux et variés. Il existe même des formes transmembranaires.

Biosynthèse du collagène

On décrit des étapes précoces intracellulaires (biosynthèse proprement dite) et des étapes tardives liées à l'exocytose et à l'arrangement des molécules dans l'espace extracellulaire.

1. Étapes précoces (intracellulaires) :

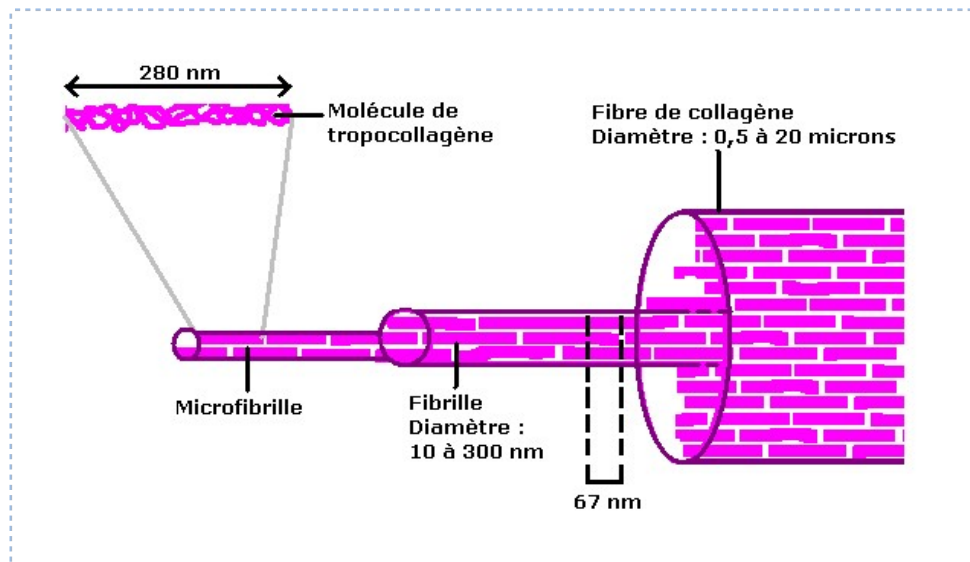
- Les chaînes polypeptidiques sont synthétisées par les ribosomes du REG sous forme de chaînes pro-alpha. Ces chaînes pro-alpha possèdent un peptide signal nécessaire au passage dans les cavités du REG et des peptides d'extension (ou propeptides) aux deux extrémités N et C.
- Les peptides d'extension C-terminaux de trois chaînes pro-alpha sont reliés ensuite par des ponts disulfures dans les cavités du REG, ce qui permet leur alignement juste avant leur passage dans l'appareil de Golgi.
- Alors que les polypeptides sont encore sous une forme non hélicoïdale, des résidus proline et lysine sont hydroxylés (dans le REG) pour former de l'OH-proline et de l'OH-lysine. Certains résidus OH-lysine sont ensuite glycosylés dans l'appareil de Golgi,
- Les chaînes pro-alpha sont ensuite reliées par des liaisons hydrogène. La triple hélice résultant de toutes ces modifications prend le nom de procollagène.



Biosynthèse du collagène : étapes précoces intracellulaires

2. Étapes tardives (exocytose et organisation dans l'espace extracellulaire) :

- Au moment de l'exocytose une enzyme membranaire, la procollagène peptidase, clive les peptides d'extension qui sont ensuite dégradés. La molécule résultante (collagène « natif »), d'une longueur de 280 nm est appelée tropolcollagène. A partir de ce stade, on parle de chaînes alpha.
- Les molécules de tropocollagène, dans le cas des collagènes fibrillaires, s'organisent au contact de la cellule pour former des microfibrilles puis des fibrilles de collagène, et dans certains cas des fibres de plus gros diamètre.
- Les molécules s'organisent avec un décalage qui fait apparaître une alternance de bandes claires et sombres (striation visible en ME) d'une périodicité de 67 nm visible à partir du stade de microfibrille (**DIAPO 18**).



Organisation des collagènes fibrillaires dans l'espace extracellulaire

En effet des lysines de la partie N-terminale d'une molécule sont pontées de façon covalente à d'autres lysines de la partie C-terminale d'une voisine par l'action de la lysyl-oxydase (DIAPO 19). Les fibrilles de collagène sont donc renforcées par des liaisons covalentes entre chaînes.

Mise en évidence du collagène

- En MO : le collagène est coloré en jaune par le safran de la coloration HES (hématoxyline, éosine, safran)
- En ME : le collagène fibrillaire est visible grâce à sa striation
- En immunohistochimie : des anticorps spécifiques dirigés contre les différents types de collagène permettent de les localiser dans les tissus, en MO et ME

D. L'élastine

L'élastine est une protéine hautement hydrophobe, non glycosylée, d'environ 750 AA. Elle est riche en proline et en glycine (comme les collagènes), renferme très peu d'OH-proline et pas d'OH-lysine. Elle est synthétisée dans le REG sous forme de proélastine libérée par exocytose dans l'espace extracellulaire (tropoélastine) où elle forme des fibres élastiques d'un diamètre moyen de 1 micron. De nombreuses liaisons covalentes stabilisent les molécules. En surface, les fibres élastiques sont recouvertes de fibrilline, glycoprotéine sécrétée par les fibroblastes principalement.

Le gène de la fibrilline, porté par le chromosome 15 est nommé FBN1. En cas de mutation, la protéine produite est défectueuse et ne joue plus son rôle de stabilisation des fibres élastiques : dans le syndrome de Marfan qui affecte tous les tissus conjonctifs de l'organisme (peau, cœur, articulation ...) on note les symptômes suivants :

- Une dilatation aortique qui peut aller jusqu'à l'anévrisme, la dissection et la rupture de l'aorte,
- Un excès de croissance des membres avec une maigreur relative,
- Une hyperlaxité ligamentaire, et d'autres symptômes moins caractéristiques.

L'élastine est le principal constituant de la MEC des artères (principalement les artères proches du cœur appelées artères élastiques). Elle représente 50% du poids sec de l'aorte thoracique. Les fibres élastiques

sont abondantes dans le derme, la MEC du cartilage élastique (nez, pavillon de l'oreille) et des cordes vocales, ainsi que dans le tissu conjonctif pulmonaire appelé interstitium.

Mise en évidence des fibres élastiques

En MO : l'élastine ne peut être distinguée des collagènes fibrillaires en HES. Une coloration spéciale est nécessaire : orcéine ou fuschine résorcine qui colore les fibres élastiques en brun foncé,

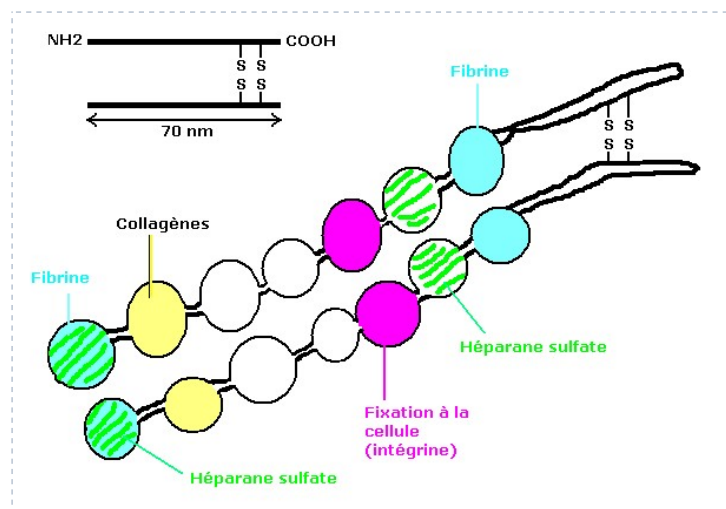
En ME : les fibres sont recouvertes de fibrilline. On ne voit pas de striation.

En immunohistochimie : on dispose d'anticorps spécifiques.

E. La fibronectine

La fibronectine est une glycoprotéine d'adhésion (au niveau des tissus non sanguins) qui arrime les cellules au tissu conjonctif environnant par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique (intégrine $\alpha 5\beta 1$). Elle établit des connexions avec de nombreuses macromolécules de la MEC sauf le collagène de type IV (schéma ci-dessous).

C'est également une protéine plasmatique trouvée à des concentrations assez élevées dans le sang circulant. Synthétisée dans le REG et l'appareil de Golgi des fibroblastes au niveau des tissus solides et par les hépatocytes (foie) au niveau sanguin, c'est un dimère composé de deux chaînes polypeptidiques reliées à leur extrémité C par deux ponts disulfures. Plusieurs régions plissées globulaires, servant de sites de liaison sont reliées par des régions non plissées.



Structure de la fibronectine