

Glikozaminoglikany – budowa, właściwości biochemiczne i znaczenie kliniczne

Glycosaminoglycans – structure, biochemical properties and clinical significance

Agnieszka Sufleta, Henryka Mazur-Zielińska

STRESZCZENIE

Katedra i Klinika Pediatrii w Zabrze
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach

Glikozaminoglikany (gag) odgrywają dużą rolę w patogenezie miażdżycy, nefropatii cukrzycowej, niewydolności żyłnej, owrzodzeniach podudzi, skazie moczanowej, mukopolisacharydozie, zapaleniu stawów, zapaleniu kości, nowotworach, chorobach tarczycy i nerek. Zaburzenia dotyczące zmiany stężenia gag są prawdopodobnie wynikiem zaburzeń w metabolizmie proteoglikanów, jak i związane są z dysfunkcją wątroby. Gag charakteryzuje znaczna heterogenność.

SŁOWA KLUCZOWE

glikozaminoglikany, miażdżycy, cukrzyca, niewydolność żylna, owrzodzenia podudzi

ABSTRACT

Glycosaminoglycans (gag) performs a great role in atherosclerosis, diabetic nephropathy, venous insufficiency, crural ulceration, uric acid diathesis, mucopolysaccharidosis, arthritis, osteitis, neoplasms, thyroid and kidney diseases. Disorders of the gag level are connected with disorders of metabolism of proteoglycans and hepar dysfunction. Gag are characterized by a considerable heterogeneity.

KEY WORDS

glycosaminoglycans, atherosclerosis, diabetes, venous insufficiency, crural ulceration

ADRES

DO KORESPONDENCJI:

Dr hab. n. med. H. Mazur-Zielińska
Katedra i Klinika Pediatrii,
41-800 Zabrze
ul. 3 Maja 13/15
tel. +48 32 370 42 81
fax +48 32 271 87 01
e-mail: agasu@wp.pl

Ann.Acad.Med.Siles. 2010, 64, 5-6, 64-68
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny
w Katowicach
ISSN 0208-5607

WSTĘP

Glikoaminoglikany (GAG) to różnorodna grupa heteropolisacharydów występująca w organizmach, specyficznie (kowalencyjnie) połączona z białkami jako proteoglikany lub niespecyficznie oddziałująca z innymi proteinami i peptydami. GAG są naturalnymi składnikami ścian naczyń krwionośnych; w żyłach dominuje siarczan dermatanu, a w tętnicach siarczan chondroityny. Glikoaminoglikany znajdują się również w płucach, błonie śluzowej jelit, wątrobie, nerkach i tkance nerwowej. Proteoglikany (PG) są heterogenną grupą glikoprotein, w cząsteczkach których dominuje komponent cukrowy nad białkowym. Ilość składnika cukrowego, przypadającego na łańcuch polipeptydowy w proteoglikanach jest znacznie większa niż w innych glikoproteinach, dla niektórych PG sięga bowiem 95% ich całkowitej masy. Cząsteczki PG zbudowane są z centralnie położonego łańcucha polipeptydowego zwanego rdzeniem białkowym lub białkiem rdzeniowym, do którego wiązaniem O- i/lub N- glikozydowym przyłączone są łańcuchy glikoaminoglikanowe (GAG) oraz inne oligosacharydy [1, 2, 3]. Proteoglikany występują głównie pozakomórkowo, tworząc komponenty macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), jak również występują w obrębie komórek. PG wewnątrzkomórkowe znajdują się w ziarnistościach wydzielniczych oraz na błonach komórkowych, gdzie spełniają rolę receptorów lub koreceptorów, między innymi dla czynników wzrostowych [4]. Silnie ujemny ładunek łańcuchów glikanowych sprawia, że proteoglikany biorą udział w selektywnej przepuszczalności błon komórkowych i regulują stopień uwodnienia tkanek. Zabezpieczają strukturę i właściwości mechaniczne substancji międzykomórkowej tkanki łącznej, poprzez interakcje z białkami włóknkowymi np. kolagenem i elastyną. Wykazano również ich wpływ na szereg procesów metabolicznych, takich jak: kalcyfikacja kości i krzepnięcie krwi [2, 5]. PG oddziałując z komórkami, promują i regulują ich swoiste funkcje, takie jak: adhezja, migracja, proliferacja, wzrost, różnicowanie oraz morfogeneza. Wiele badań potwierdziło udział zarówno GAG, jak i proteoglikanów ściany naczyniowej w patogenezie miażdżycy, w której istotną rolę odgrywają procesy zapalne oraz uszkodzenie śródbłonna naczyniowego [6]. W różnych stanach choro-

bowych, w których dochodzi do przebudowy tkanki, zachodzą równolegle zmiany w składzie i rozmieszczeniu proteoglikanów [7, 8]. Ze względu na fakt, że GAG zmieniają właściwości ściany naczyniowej oraz wykazują istotny wpływ na układ krzepnięcia, mają zastosowanie w leczeniu owrzodzeń, nefropatii cukrzycowej i wielu innych schorzeń [9, 10]. Klinicznie GAG znajdują zastosowanie w zapobieganiu zaburzeń zatorowo-zakrzepowych [11, 12, 13].

BUDOWA I METABOLIZM GLIKOZAMINOGLIKANÓW

Glikoaminoglikany (GAG) są to długie, nierozgałęzione, ujemnie naładowane łańcuchy polisacharydowe, złożone z powtarzających się naprzemiennie podjednostek disacharydowych. Podjednostki te składają się z reszt N-acetylowanej heksozoaminy: D-glukoaminy (GlcNAc) lub D-galaktoaminy (GalNAc) albo N-siarczanowanej D-glukoaminy oraz reszt kwasu heksuronowego: D-glukuronowego (GlcUA) lub D-iduronowego (IdUA) albo galaktozy [2]. W niektórych GAG wykazano również obecność reszt L-frukozy, D-mannozy, D-ksylozy i kwasu N-acetylneuraminowego [4]. Kwas hialuronowy w odróżnieniu od pozostałych GAG nie tworzy kowalencyjnych połączeń z białkami, ale oddziałuje niekowalencyjnie z wieloma różnymi cząsteczkami [14]. Obecność w cząsteczkach GAG licznych grup siarczanowych i karboksylowych przyczynia się do wysoce ujemnego ładunku łańcucha polisacharydowego, dlatego wiążą one duże ilości wody i kationów (K^+ , Na^+), nadając tkankom odpowiednie napięcie [10].

GAG inne niż hialuronian syntetyzowane są bezpośrednio na białku rdzeniowym jako proteoglikany. Rdzeń białkowy proteoglikanów syntetyzowany jest na rybosomach, a następnie transportowany jest do retikulum endoplazmatycznego, potem wędruje do aparatu Goldiego, gdzie odpowiednie transferazy przyłączają odpowiednie reszty cukrowe. Synteza GAG kończy się epimeryzacją kwasu glukuronowego na iduronowy i dołączeniem reszt grup siarczanowych pod wpływem odpowiednich epimeraz i syntetaz [2, 15, 16].

W procesie degradacji łańcuchów GAG uczestniczą: endoglikozydazy, egzoglikozydazy i sulfatazy. Częściowa degradacja proteoglikanów może mieć miejsce w przestrzeni zewnątrzkomórkowej i odbywać się przy udziale endoglikozydaz. Całkowita degradacja PG zachodzi wyłącznie wewnątrzkomórkowo – w lizo-

somach. Rozpad łańcuchów glikanowych katalizowany jest przez endoglikozydazy: hialuronidazę, która rozszczepia wiązania heksozamidynowe kwasu hialuronowego i siarczanów chondroityny [6, 14] oraz heparynazę (HPSE-1), rozkładającą siarczan heparanu i odgrywającą istotną rolę w procesach zapalnych i nowotworowych. Prowadzone są badania nad wpływem działania HPSE-1 na kontrolę rozrostu komórek nowotworowych [17, 18, 19].

Glikozoaminoglikany katabolizowane pozakomórkowo w tkankach, transportowane są do układu krążenia, gdzie mogą być dalej degradowane w lizosomach wątroby. Produkty degradacji częściowo są wykorzystywane w innych procesach metabolicznych, np. glukuronian i siarczany są zużywane przez wątrobę do sprzęgania z niepolarnymi substancjami (np. niektóre leki: diazepam, werapamil, karbamazepina) lub jako ostateczne metabolity są wydalane z moczem.

PODZIAŁ GLIKOZOAMINOGLIKANÓW

Ze względu na budowę chemiczną łańcuchów glikanowych GAG dzielimy na 4 grupy:

- glikozoaminoglikany heparanowe,
- glikozoaminoglikany keratanowe,
- glikozoaminoglikany chondroityno-dermatanowe,
- kwas hialuronowy.

Biorąc pod uwagę rodzaj występującej w łańcuchu GAG heksozozaminy, możemy podzielić GAG na:

- glukozoaminoglikany: (zawierające N-acetylo-D-glukoaminę) heparyna, siarczany heparanu, kwas hialuronowy, siarczany keratanu,
- galaktozaminoglikany: (zawierające N-acetylo-D-galaktozaminę) siarczany dermatanu, siarczany chondroityny [2].

GLIKOZOAMINOGLIKANY HEPARANOWE

Do glikozoaminoglikanów heparanowych zalicza się: heparyny (Hep) i siarczany heparanu (HS). Łańcuchy cukrowe GAG heparanowych zbudowane są z reszt N-siarczanowanej i N-acetylowanej α-D-glukozyminy oraz reszt kwasu β-D-glukuronowego, połączonych naprzemiennie wiązaniami 1-4-glikozydowymi. Heparyny są syntetyzowane i magazynowane w komórkach tłuszczowych i bazofilach, jako proteoglikany o dużej masie cząsteczkowej (1000 kDa). Obecność heparyn w znacznych ilościach stwierdzono w płucach, błonie śluzowej jelit, ścianie naczyń krwionośnych, wątroby i

nerkach [1]. Wysoka zawartość grup siarczanowych sprawia, że cząsteczki te są najsilniejszym, naturalnym polianionem. W badaniach wykazano, że heparyny i inne ujemnie naładowane glikoproteiny mogą efektywnie zapobiegać biochemicznym przemianom prowadzącym do albuminurii [5, 9]. Heparyna pełni wiele ważnych funkcji w organizmie: wpływa na procesy różnicowania i proliferacji komórek (poprzez oddziaływanie z czynnikami wzrostowymi i cytokinami); reguluje procesy adhezji i migracji komórek (poprzez oddziaływanie z glikoproteinami substancji międzykomórkowej); hamuje krzepnięcie krwi (inaktywując czynniki krzepnięcia: XII, XI, IX, X); wpływa na metabolizm lipoprotein (aktywując lipazę lipoproteinową); prowadzi do degradacji triglicerydów, wpływa na układ immunologiczny, aktywując makrofagi i komórki naturalnie cytotoksyczne [1, 2]. Heparyna hamuje aktywność trombiny, wpływając aktywnie na proces krzepnięcia krwi za pośrednictwem antytrombiny III, hamuje aktywność trombiny i czynnika Xa. Pełni istotną rolę w leczeniu chorób zatorowo-zakrzepowych, przewlekłej niewydolności żyłnej w przebiegu cukrzycy czy owrzodzeń żylnych podudzi [11, 12]. Na polskim rynku dostępne są również heparynoidy, pochodne heparyny, działają przeciwzapalnie, przyspieszają wchłanianie obrzęków, nacieków i krwiaków, przeciwdziałają tworzeniu się skrzepów, stymulują regenerację uszkodzonej tkanki łącznej, normalizują lepkość, przepuszczalność i zdolność wiązania wody w substancji międzykomórkowej tkanki podskórnej, poprawiają miejscowy przepływ krwi, w wyniku czego zmniejszają dolegliwości bólowe.

Siarczany heparanu (HS) są produkowane prawdopodobnie przez wszystkie typy komórek zwierzęcych. Glikany te tworzą proteoglikany heparanosiarczanowe (HSPG) i występują w przestrzeni wewnątrz- i zewnątrzkomórkowej [4, 20]. HSPG są obecne w ziarnistościach wydzielniczych i na powierzchni błon komórkowych, a produkty ich degradacji w jądrze komórkowym. Szczególnie wysoką zawartość tych proteoglikanów stwierdza się w płucach, wątrobie, nerkach [13], tkance nerwowej i ścianie naczyń krwionośnych. Siarczany heparanu spełniają podobne funkcje jak heparyny, działają antykoagulacyjnie (wiążąc się z antytrombiną III); antyproliferacyjnie oraz stymulują lipazę lipoproteinową (LPL) [2]. Obecność HS w śródbłonku na-

czyniowym chroni go przed uszkodzeniem. Ilość HS koreluje z stężeniem glukozy, hiper-glikemia zmniejsza ilość HS w śródbłonku naczyń, co sprzyja jego uszkodzeniu [3, 21]. Fakt ten ma istotne znaczenie w patogenezie nefropatii cukrzycowej, retinopatii, jak również miażdżycy. Preparaty zawierające HS to Sulodexyd, który zawiera 80% tzw. „szybko wędrującej” niskocząsteczkowej heparyny oraz 20% siarczanu dermatanu Sulodeksyd zaktywowany czynnikiem X (Xa) oraz hamuje agregację płytek krwi i aktywację układu fibrolitycznego, w niewielkim stopniu natomiast wpływa na trombinę, obniża poziom fibrynogenu. Sulodexyd wywiera wpływ na ekspresję TGF- β , przywraca ujemny ładunek na powierzchni błony komórek nerkowych, hamuje heparanazę-1 w nabłonku komórek nerkowych [13]. Wiele badań potwierdza skuteczność w skojarzonym leczeniu owrzodzeń żylnych, nefropatii cukrzycowej sulodeydem [10,12,21].

GLIKOZAMINOGLIKANY KERATANOWE

Glikoaminoglikany keratanowe (KS) najczęściej zlokalizowane są w macierzy zewnątrzkomórkowej w postaci proteoglikanów, w których łańcuchy polisacharydowe siarczanów keratanu łączą się z białkiem rdzeniowym za pośrednictwem regionu łączącego, zawierającego oligosacharydowe reszty mannozy, fukozy, galaktozoaminy oraz kwasu N-acetylneuraminowego. KS znajdują się w substancji podstawowej rogowki, zabezpieczając jej optyczne właściwości oraz w ścianie aorty. Występują w dużych ilościach w chrząstce i krążkach międzykręgowych, zaś w mniejszej ilości w kościach, tkance nerwowej [1, 2].

GLIKOZAMINOGLIKANY CHONDROITYNO-DERMATANOWE

Do tkanek szczególnie zasobnych w glikoaminoglikany chondroityno-dermatanowe należą: chrząstka, ścięgno, skóra, pępowina, ściana naczyń krwionośnych, zastawka serca (18, 20). Podobnie jak inne grupy GAG siarczan chondroityny spełniają wiele ważnych funkcji biologicznych w organizmie, między innymi: kompleksują lipoproteiny LDL i VLDL, przyspieszają powstawanie fibryny, integrują strukturę substancji międzykomórkowej, oddziałując z jej składnikami [2, 18]. DS najczęściej wchodzi w skład małych proteoglikanów, obecnych w tkance kostnej (bigli-

kan), ścianie aorty, rogowce (dekoryna) [6,22]. Proteoglikany te wiążą się z kolagenami typu I i II, hamują procesy kalcyfikacji, mają zdolność do samoasocjacji. Podobnie jak proteoglikany chondroitynosiarczanowe mają duże powinowactwo do LDL, ułatwiają penetrację tych cząstek do ściany tętnicy, inicjując proces miażdżycowy [22]. DS występują w postaci małych proteoglikanów: dekoryna, versican, biglycan i oddziałują na procesy proliferacji, migracji komórkowej. Ostatnie badania wykazują prawdopodobny związek między poziomem dekoryny w złośliwych guzach piersi a ich wielkością, tzn. im większy guz, tym mniej dekoryny [23]. Wyniki innych badań pokazują również wpływ niektórych proteoglikanów na rozwój nowotworów. Wykazano również, że dekoryna posiada właściwości hamujące rozwój nowotworów, a perlecan działa odwrotnie [8].

KWAS HIALURONOWY

Kwas hialuronowy (HA) jest nierozgałęzionym łańcuchem polisacharydowym, złożonym z powtarzających się jednostek disacharydowych, zawierających reszty N-acetyloglukozoaminy i kwasu D-glukuronowego [16]. W przeciwieństwie do innych grup GAG nie tworzy on proteoglikanów, ale niekowalencyjnie może wiązać się z innymi białkami. Synteza HA odbywa się na powierzchni komórek, przez naprzemienne dodawanie zaktywowanych cząstek urydynodifosforanu – glukuronianu i urydynodifosforanu-N-acetyloglukozoaminy do redukującego końca rosnącego łańcucha polisacharydowego przy udziale trzech izoform enzymu zwanego syntazą hialuronianową [14].

Kwas hialuronowy występuje w niewielkich ilościach w tkankach organizmów dojrzałych, ale bardzo obficie podczas rozwoju embrionalnego i w czasie gojenia się ran oraz stanach zapalnych i nowotworach. Największe ilości tego kwasu stwierdza się w chrząstce, ciałku szklistym oka, pępowinie, płynie stawowym [4]. HA wykazuje zdolności do wiązania wody w swojej polisacharydowej sieci, tworzy agregaty z niektórymi składnikami ECM. Pełni on funkcję czynnika przeciwzapalnego, zwiększa ruchliwość i migrację komórek. Odgrywa także znaczącą rolę antyproliferacyjną w rozwoju miażdżycy, hamując pobudzające działanie PDGF na komórki mięśni gładkich [16]. Kwas hialuronowy powoduje zwiększenie lepkości płynu stawowego, ułatwiając poślizg powierzchni stawowych. Zwiększa przenikanie

substancji odżywczych do chrząstki stawowej, poprawiając czynność stawu. W wielu najnowszych badaniach wskazuje się na istotną rolę rozpuszczalnych izoform CD44 – powierzchniowokomórkowego receptora dla kwasu hialuronowego, który występuje na powierzchni wszystkich krwinek białych w różnych izoformach, różniących się masą cząsteczkową. Kompleks HA+CD44 odgrywa istotną rolę

w rozwoju nowotworów, blokowanie tego kompleksu hamuje wzrost nowotworu [4]. Niektóre z GAG znalazły obecnie szerokie zastosowanie w profilaktyce i leczeniu powikłań zatorowo-zakrzepowych w przebiegu między innymi: miażdżycy, cukrzycy i niewydolności żyłnej, w reumatologii, chirurgii okulistycznej i dermatologii.

PIŚMIENNICTWO:

- Lauver D. A., Lucchesi B. R., Sulodexide. a renewed interest in this glycosaminoglycan. *Cardiovas. Drug. Rev.* 2006; 24: 214–226.
- Sadowski M., Borzyn-Kłuczyk M., Stypułkowska A., Wielgat P., Zwierz K. Macierz międzykomórkowa ściany żyły. *Przeg. Flebolog.* 2006; 14: 141–149.
- Cecora A., Chwała M. Czy Glikozaminoglikany zmieniają właściwości ściany żyłnej w warunkach zastoju krwi u chorych z przewlekłą niewydolnością żylną? *Przeg. Flebolog.* 2003; 11: 85–89.
- Toole B.P., Słomiany M. G., Hyaluronan. a constitutive regulator of chemoresistance and malignancy in cancer cells. *Semin. Cancer. Biol.* 2008; 18: 244–250.
- Abaterusso C., Gabaro G. The role of glycosaminoglycans and sulodexide in treatment of diabetic nephropathy. *Treat Endocrinol* 2006; 5: 211–2.
- Malavaki C., Mizumoto S., Karamanos N., Sugahara. Recent advances in the structural study of functional chondroitin sulfate and dermatan sulfate in health and disease. *Connect. Tissue. Res.* 2008;49:133–9.
- Gharagozlian S., Borrebaek J., Henriksen T. i wsp. Effect of hyperglycemic condition on proteoglycan secretion in cultured human endothelial cells. *Eur. J. Nutr.* 2006; 45:369–75.
- Timar J., Lapis K., Dudas J., Sebestven A. I wsp. Proteoglycans and tumor progression: Janus-faced molecules with contradictory functions in cancer. *Semin. Cancer. Biol.* 2002;12:173–86.
- Fukamil K., Yamagishi S., Ueda S., Okuda S., Novel therapeutic targets for diabetic nephropathy. *Endocr. Metab. Immune. Disord. Drug. Targets.* 2007;7: 83–92.
- Mastej K., Gacka M., Adamiec R. Ocena gojenia się owrzodzeń żylnych podudzi w przebiegu zespołu pozakrzepowego pod wpływem skojarzonej terapii sulodexydem. *Przeg. Flebolog.* 2004; 12: 131–134.
- Mastej K., Gacka M., Adamiec R. Aktywność zakrzepowa i fibrynolityczna u pacjentów z owrzodzeniem żylnym podudzi w podczas skojarzonego leczenia sulodexydem. *Przeg. Flebolog.* 2004; 12: 97–100.
- Cirujeda J. L., Granado P. C. A study on the safety, efficacy, and efficiency of sulodexide compared with acenocoumarol in secondary prophylaxis in patient with deep venous thrombosis. *Angiology* 2006; 57: 53–64.
- Lambers Heerspink H. J., Fowler M. J., Volgit J. i wsp. Rationale for and study design of the sulodexide trials in type 2 diabetic, hypertensive patients with microalbuminuria or overt nephropathy. *Diabet. Med.* 2007; 24: 1290–1295.
- Genasetti A., Vigetti D., Viola M. i wsp. Hyaluronan and human endothelial cell behavior. *Connect. Tissue. Res.* 2008;49:120–3.
- Fischer J. W., Schrör K. Regulation of hyaluronan synthesis by vasodilatory prostaglandins. Implications for atherosclerosis. *Thromb. Haemost.* 2007; 98:287–95.
- Heinegård D. Proteoglycans and more-from molecules to biology. *Int. J. Exp. Pathol.* 2009;90:575–86.
- McKenzie E. A. Heparanase: a target for drug discovery in cancer and inflammation. *Br. J. Pharmacol.* 2007; 151: 1–14.
- Kaji T., Sakurai S., Yamamoto C. i wsp. Characterization of chondroitin/dermatan sulfate proteoglycans synthesized by bovine retinal pericytes in culture. *Biol. Pharm. Bull.* 2004; 27:1763–8.
- Reiland J., Sanderson R. D., Waguespack M. i wsp. Heparanase degrades syndecan-1 and perlecan heparan sulfate: functional implications for tumor cell invasion. *J. Biol. Chem.* 2004;279:8047–55.
- Han J., Zhang F., Xie J. i wsp. Changes in cultured endothelial cell glycosaminoglycans under hyperglycemic conditions and the effect of insulin and heparin. *Cardiovasc. Diabetol.* 2009; 20: 46.
- Ravera M., Re M., Weiss U., Deferrari L., Deferrari G. Emerging therapeutic strategies in diabetic nephropathy. *J. Nephrol.* 2007; 20: S23–S32.
- Kinsella M.G., Bressler S.L., Wight T.N. The regulated synthesis of versican, decorin, and biglycan: extracellular matrix proteoglycans that influence cellular phenotype. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene. Expr.* 2004;14:203–34.
- Kelemen L.E., Couch F.J., Ahmed S. i wsp. Genetic variation in stromal proteins decorin and lumican with breast cancer: investigations in two case-control studies. *Breast. Cancer. Res* 2008; 10: 1–11.