

Received: 2007.08.28
Accepted: 2007.10.18
Published: 2007.11.15

Enolaza na powierzchni komórek eukariota i prokariota jako receptor plazminogenu ludzkiego*

Enolase on the surface of prokaryotic and eukaryotic cells is a receptor for human plasminogen

Ewa Seweryn¹, Jadwiga Pietkiewicz¹, Agnieszka Szamborska², Andrzej Gamian^{1,3}

¹ Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, Akademia Medyczna we Wrocławiu

² Wydziałowy Zakład Biochemii, Politechnika Wroclawska

³ Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu

Streszczenie

Enolaza przez wiele lat uważana była za enzym szlaku glikolizy, powszechnie występującego w cytosolu komórek eukariota i prokariota. Wyniki badań prowadzonych w ciągu ostatnich lat wskazują, że jest to białko wielofunkcyjne. Pełni ono wiele niekatalitycznych funkcji w różnego typu komórkach. Enolaza wyeksponowana na powierzchni komórek może stanowić receptor dla pewnych ligandów. Szczególnie interesująca jest jej rola receptorowa wobec plazminogenu ludzkiego. System enolaza/plazminogen (plazmina) jest jednym z mechanizmów ułatwiających inwazyjność patogenów w ustroju człowieka, pełni istotną rolę w procesie miogenezy oraz w rozroście tkanek nowotworowych. Obecność enolazy na powierzchni komórek patogenów atakujących ustrój człowieka jest też źródłem generowania przeciwciał, co stanowi podłoże rozwoju różnych chorób autoimmunologicznych. W pracy podano ogólną charakterystykę wymienionych zagadnień.

Słowa kluczowe:

enolaza • plazminogen • receptor plazminogenu • miogeneza • inwazyjność • przerzutowanie • autoimmunogenność

Summary

Enolase was long considered an enzyme of the glycolytic pathway ubiquitously occurring in the cytosol of prokaryotic and eukaryotic cells. Results of extensive studies, especially those performed in the last ten years, indicate, however, that this protein is multifunctional. It plays several noncatalytic functions in various types of cells. Enolase exposed on the surface of cells may be a receptor for certain ligands. Especially interesting is its role as a receptor to human plasminogen. The enolase/plasminogen (plasmin) system is one of the mechanisms facilitating the invasiveness of pathogens in the human organism and it plays an important role in processes of myogenesis and in the development of tumor tissues. The presence of enolase on the surface of pathogenic cells invading the human organism is also a cause of antibody induction, which may be a basis for the development of certain autoimmune diseases. These questions are the subject of this review.

Key words:

enolase • plasminogen • plasminogen receptor • myogenesis • invasiveness • metastasis • autoimmunity

* Opracowano w ramach tematu realizowanego w projekcie badawczym nr 1602, finansowanym przez Akademię Medyczną we Wrocławiu.

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/11504.pdf**Word count:** 4242**Tables:** 2**Figures:** 2**References:** 128**Adres autorki:** dr Ewa Seweryn, Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej, AM, ul. Chałubińskiego 10, 50-368 Wrocław;
e-mail: eseweryn@bioch.am.wroc.pl

Plazminogen i enolaza stanowią istotne składniki funkcjonowania układów biologicznych, zarówno w oddzielnych szlakach biochemicznych, jak też w systemach zależnych od wzajemnych oddziaływań obu białek. Niniejsza praca, nie wyczerpując tego szerokiego tematu, stanowi krótkie omówienie interakcji plazminogenu i enolazy w aspektach udziału tych białek w procesach miogenezy, migracji komórek nowotworowych i przerzutowaniu, infekcjach drobnoustrojów oraz procesach autoimmunologicznych.

1. ENZYM GLIKOLIZY – ENOLAZA JAKO BIAŁKO WIELOFUNKCYJNE. ROLA RECEPTOROWA NA POWIERZCHNI KOMÓREK

Enolaza (EC 4.2.1.11) znana jest od 1934 r. jako enzym szlaku glikolizy (szlaku Embdena-Meyerhofa-Parnasa), katalizujący w sposób odwracalny przemianę 2-fosfoglicerynianu w fosfoenolopirogronian na etapie fosfotrioz [70]. Zaliczana jest do metaloenzymów, ponieważ wymaga obecności jonów magnezu w stabilizacji struktury dimerycznej białka i w procesie katalizy [18].

W komórkach eukariota enolaza występuje w postaci homo- lub heterodimerów tworzonych przez monomery α , β , γ (sekwencje enolazy człowieka dostępne w bazie Kod UniProt KB/Swiss-Prot pod numerami odpowiednio: Q05524, P13929, P09104). Trzy różne geny, ENO1, ENO3 i ENO2 (EMBL/Gene Bank: odpowiednio X66610, X16504, X13120) kodują α , β , γ podjednostki [24,33]. Alfa-enolaza jest najbardziej pospolitą izoformą występującą w cytoplazmie komórek eukariota i prokariota. Izoenzym ten, zwany enolazą nieneuronalną, jest w większości tkanek ssaków i człowieka syntetyzowany już we wczesnych stadiach rozwoju embrionalnego. Podczas ontogenezy, w komórkach o dużym zapotrzebowaniu na energię następuje wygaszenie ekspresji α podjednostek, a pobudzenie syntezy izoformy β w mięśniach szkieletowych i mięśniu sercowym (enolaza mięśniowo swoista) oraz ekspresji podjednostki γ w neuronach (enolaza neuronowo swoista) [6,55,56,101].

Enolaza wykazuje wysoki stopień konserwatywności – wśród izoenzymów występujących w organizmach ssaków i człowieka obserwuje się około 82% homologii w sekwencji aminokwasowej [84]. Stwierdzono również 40–90% identyczności między enolazami różnych gatunków niższych ewolucyjnie, zarówno na poziomie sekwencji aminokwasowej, jak i nukleotydowej [84,89].

W cytoplazmie komórek enolaza zdolna jest tworzyć kompleksy z innymi enzymami szlaku glikolizy, które z kolei wiążą się ze swoistymi substrukturami komórki. Taka mikrokompartmentyzacja pozwala na lepsze zaopatrzenie lokalne w niezbędne metabolity i energię [59,66]. Wykazano, że ATP potrzebne do skurczu mięśni poprzecznie prążko-

wanych, może być wytwarzane w przyłączonym do sarkomeru kompleksie, utworzonym przez dehydrogenazę aldehydu-3-fosfoglicerynowego, kinazę fosfoglicerynianową, mutazę fosfoglicerynianową i enolazę [36,37,110]. Wytwarzane w centrach aktywnych enzymów metabolity nie są uwalniane do środowiska. Produkt reakcji jednego enzymu jest substratem dla kolejnego w kompleksie, co skraca czas ciągu przemian.

Możliwe są też w cytosolu interakcje enolazy z makrocząsteczkami o funkcjach strukturalnych. Wykazano, że w czasie miogenezy następuje heteroasocjacja izoenzymów α i β enolazy z układem tubulina/mikrotubula, co może mieć wpływ na reorganizację filamentów cytoskieletu komórki [57].

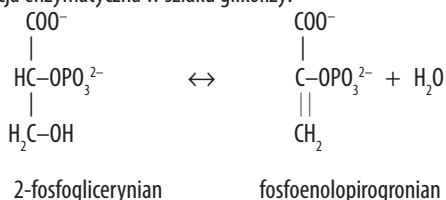
Okazało się także, że enolaza oddziałuje z cholesterolem, co ma wpływ na poziom akumulacji estrów cholesterolu w komórkach [16]. Cholesterol pełni krytyczną rolę w utrzymaniu strukturalnej i funkcjonalnej integralności wszystkich komórek ssaków jako składnik błon komórkowych. Ważne jest zatem zachowanie ścisłej regulacji cyklu estryfikacji cholesterolu i hydrolizy jego estrów wewnątrz komórek. W makrofagach przeładowanych cholesterolem, przekształcających się w tzw. komórki piankowe, zaobserwowano wzrost 4–5-krotny poziomu ekspresji enolazy, co nie było związane z jej większą aktywnością na szlaku glikolizy. Wykazano, że białko to ma zdolność wiązania estrów cholesterolu w komórkach, wpływając na zmniejszenie ich dostępności dla hydrolazy estrów cholesterolowych [16,103]. Zjawisko to powoduje nadmierny wzrost poziomu estrów cholesterolu w komórkach i ma bezpośredni wpływ na rozwój procesu miażdżycy. Podobne relacje między poziomem ekspresji enolazy i zawartością estrów cholesterolu zaobserwowano w tkance mózgowej osób cierpiących na choroby neurodegeneracyjne – stwardnienie rozsiane i encefalopatię [103,117].

Enolaza może pełnić również inne nieenzymatyczne funkcje w różnych typach komórek (tabela 1). Białko α -enolazopodobne występuje w soczewce oka kręgowców, gdzie pełni funkcję strukturalną jako τ -krystalina. Wśród kilku odmian krystalin znajdujących w soczewce, izoforma α jest główną frakcją i stanowi 23% białka całkowitego. Wykazano 92% homologii jej sekwencji aminokwasowej z α -enolazą człowieka i 50,3% z izoenzymem 1 enolazy drożdżowej [84,121]. Zaburzenia w budowie τ -krystaliny/enolazy obserwuje się w katarakcie [120].

τ -Krystalina obecna w soczewce jako monomer, nie wykazuje aktywności glikolitycznej [120]. Prawdopodobnie wynika to z niedoboru jonów Mg^{2+} , istotnych w stabilizacji dimerów enolazy oraz katalizie [91].

Tabela 1. Zróżnicowane funkcje enolazy w komórkach eukariota i prokariota

1. Funkcja enzymatyczna w szlaku glikolizy:



2. Funkcje nieenzymatyczne:

- τ -kryształina – białko strukturalne soczewki oka
- MBP-1 – czynnik regulujący ujemnie protoonkogen *c-myc*
- HAP47 – białko stresu hipoksyjnego
- HSP48 – białko szoku cieplnego
- Organizacja oddziaływań mikrotubule/centrosomy
- Ligand wiążący estry cholesterolu – akumulacja estrów cholesterolu w komórkach
- Składnik degradosomu RNA *E. coli* – degradacja mRNA transportera glukozy
- Białko powierzchniowe komórek – receptor plazminogenu

Inną niezwykłą funkcją α -enolazy jest jej udział w regulacji protoonkogeny *c-myc*, wykazany w komórkach HeLa (rak szyjki macicy) [32,107]. Sekwencja cDNA α -enolazy wykazuje ponad 95% homologii z sekwencją kodującą białko MBP-1 (promoter-binding protein-1), co sugeruje, że α -enolaza i MBP-1 są produktami tego samego genu.

Białko MBP-1 umiejscowione w jądrze komórkowym ma znaczenie w regulacji wzrostu i różnicowania komórek, jako negatywny regulator protoonkogeny *c-myc* [32,107].

Ciekawa jest też funkcja ochronna α -enolazy w komórkach narażonych na działanie czynników ekstremalnych, takich jak wysoka temperatura, niedobór glukozy lub tlenu. Spadek poziomu tlenu we wrażliwych na hipoksję komórkach (nabłonek kanalików nerkowych, fibroblasty, komórki mięśni gładkich, pneumocyty, śródbłonek naczyń) prowadzi do niedoborów energii, a to wywołuje m.in. wzrost przepuszczalności błony komórkowej, utratę gradientu jonów i w dalszej konsekwencji nieodwracalne uszkodzenia komórek [49]. Komórki rozwijają wtedy pewne mechanizmy adaptacyjne. Najczęściej wykorzystywaną strategią obronną u ssaków jest przejście z tlenowej glikolizy na beztlenową jako źródła energii [99,116]. Komórki śródbłonka podczas chronicznej hipoksji wytwarzają nadmiernie α -enolazę, jako jedno z pięciu białek szoku hipoksyjnego (HAPs), co pozwala chronić je przed skutkami metabolizmu anaerobowego [1,43].

U drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, w wyniku podwyższenia temperatury środowiska obserwuje się także nadspresję enolazy, ale jako białka szoku cieplnego HSP46 [52]. W cytoplazmie komórek *S. cerevisiae* zaobserwowano ponadto zjawisko tworzenia przez enolazę kompleksów z innymi enzymami glikolitycznymi i przylegania ich do powierzchni zewnętrznej błony mitochondrialnej [39]. Sugeruje się, że takie kompleksy pełnią podwójną rolę. Ułatwiają dotarcie metabolitów z cytoplazmy do po-

wierzchni błony zewnętrznej mitochondrium, zwiększając w konsekwencji ich lokalne stężenie w tym obszarze. Może to przyspieszać ich przenoszenie do wnętrza mitochondrium. Kompleksy te uczestniczą również w procesie transportu tRNA_{Lys} z cytosolu do matryks, co warunkuje prawidłowy przebieg syntezy białek wewnątrzmitochondrialnych [17].

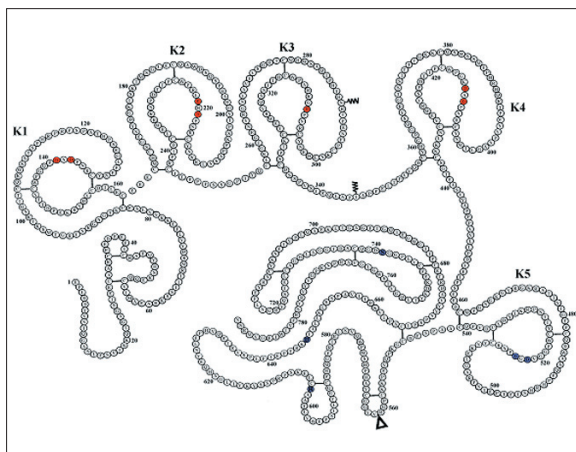
Inny typ wieloskładnikowego kompleksu białkowego, w którym występuje enolaza, odkryto w komórkach bakterii *Escherichia coli*. Jest to degradosom RNA, zawierający jako główny składnik RN-azę E odpowiedzialną za nukleolityczną degradację RNA komórki. W regionie C-końcowym RN-azy E przyłączona jest fosforylaza polinukleotydowa, helikaza B i enolaza [20,61,77]. W kompleksie tym enolaza odgrywa główną rolę w pobudzaniu degradacji mRNA transportera glukozy, w odpowiedzi na stres metaboliczny wywołany nadmiernym nagromadzeniem glukozy-6-fosforanu lub fruktozo-6-fosforanu [58,78]. Brak enolazy w strukturze degradosomu znosi eliminację tego mRNA [79]. Wykazano, że degradosom RNA komórek *E. coli* asocjuje od strony N-końca RN-azy E z błoną cytoplazmatyczną [67]. Pozwala to komórce bakteryjnej reagować w szybki sposób na zbyt duży napływ heksoz do jej wnętrza. W badaniach krystalograficznych homodimeru enolazy *E. coli* zidentyfikowano obszar odpowiedzialny za wiązanie z RN-azą E. Z porównawczej analizy sekwencji fragmentu RN-azy wiążącego enolazę wynika, że jest on wysoce konserwatywny w podrodzynie γ -proteobakterii. Zatem możliwy jest udział enolazy w degradowaniu mRNA transportera glukozy w szczepach *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia pestis*, *Haemophilus influenzae* i in. [20].

U człowieka ekspresja enolazy w pewnych komórkach jest znacznie większa, niż wskazywałoby zapotrzebowanie w glikolizie. Może to świadczyć o pełnieniu przez to białko jeszcze innych funkcji. Enolaza wyeksponowana na powierzchni nabłonka, śródbłonka, fibroblastów, komórek neuronalnych, komórek nowotworowych i niektórych komórek hematopoetycznych pełni rolę receptora plazminogenu [27,71,95,105]. Z użyciem monoklonalnych przeciwciał przeciwko enolazie ludzkiej wykazano, że powierzchniowa enolaza limfocytów B i T, granulocytów i monocytów odpowiada w 90% za oddziaływanie z tym ligandem i ułatwia je [71].

Mechanizm transportu enolazy z cytosolu na powierzchnię komórek nie został dotychczas wyjaśniony. W białku tym nie zidentyfikowano sekwencji sygnałowej, nie znaleziono również domeny dokującej, charakterystycznej dla białek kotwiczących w błonie komórkowej. Hipotetycznie zakłada się, że enolaza może być skierowana do błony komórkowej dzięki wewnętrznej sekwencji sygnałowej ³³AAVPSGASTGIY⁴⁴ tworzonej przez reszty aminokwasów domeny hydrofobowej zawartej w N-końcowej części monomeru [95], a asocjacja z błoną może zachodzić wskutek potranslacyjnej acylacji [16].

2. WŁASNOŚCI MOLEKULARNE PLAZMINOGENU LUDZKIEGO

Plazminogen (Plg) jest białkiem wytwarzanym przez wątrobę i wydzielanym do osocza jako nieaktywny prekursor proteazy serynowej, plazminy (EC 3.421.7) [118]. Jego



Ryc. 1. Struktura pierwszorzędowa Glu-Plg [69]. Strzałką wskazano miejsce cięcia proteolitycznego (Arg561-Wal562), warunkującego powstanie centrum aktywnego plazminy. Reszty aminokwasów His603, Asp646 i Ser741 tworzą triadę katalityczną (kolor granatowy). W domenach pastorałowych zaznaczono kolorem czerwonym reszty asparaginianowe istotne w wiązaniach z receptorami plazminogenu/plazminy

struktura pierwszorzędowa została określona na podstawie zbadanej sekwencji aminokwasowej [104] oraz sekwencji nukleotydowych cDNA [36] i DNA genomu [37], ale nieznaną jest pełna przestrzenna budowa tego białka. Plazminogen jest syntetyzowany jako polipeptyd o długości 810 aminokwasów. Po odcięciu sekwencji liderowej natywne białko zawiera 791 aminokwasów. W procesach modyfikacji potranslacyjnych podlega ono glikozylacji i fosforylacji [45,46,47,115].

Ludzki plazminogen jest glikoproteiną. Na rycinie 1 przedstawiona jest pierwszorzędowa struktura tego białka, opracowana w zespole prof. M. Llinasa (dostępna w 2005 r. na stronie www.chem.cmu.edu/groups/Llinas). W pojedynczym łańcuchu polipeptydowym wyróżnia się siedem domen: domenę N-końcową, pięć powtarzających się 80-aminokwasowych domen pastorałowych i C-terminalną domenę zawierającą centrum katalityczne.

Natywna postać plazminogenu w osoczu, określana jako Glu-Plg, zawiera resztę kwasu glutaminowego na N-końcu. Glu-Plg może być modyfikowany proteolitycznie przez plazminę za pośrednictwem autokatalizy oraz przez białka aktywujące. Zachodzi wówczas hydroliza wiązania peptydowego pomiędzy Arg68-Met69 lub Lys77-Lys78, bądź też Lys78-Val79 i powstaje bardziej zasadowa postać Lys-Plg [63,98]. Dochodzi do rearanżacji cząsteczki, polegającej na związaniu odciętego fragmentu N-końcowego mostkiem disiarczkowym do C-końca [98]. Centrum aktywne plazminy znajduje się w domenie C-końcowej i powstaje w wyniku hydrolizy wiązania peptydowego pomiędzy Arg561-Wal562 (ryc. 1), katalizowanej przez białkowe aktywatory plazminogenu: tkankowoswoistego (t-PA) i typu urokinazowego (u-PA). Tworzy się aktywna proteaza, w której wyróżnia się łańcuch ciężki (A), zawierający 561 reszt aminokwasowych i łańcuch lekki (B) – 230 reszt. Połączone są one dwoma mostkami disiarczkowymi [83,87]. Obecne w centrum aktywnym plazminy reszty His603, Asp646 i Ser741 tworzą triadę katalityczną cha-

rakterystyczną dla proteaz serynowych [97]. Plazmina jest proteazą o dużej swoistości, hydrolizującą wiązania peptydowe umiejscowione obok reszt lizyny lub argininy. Jej aktywacja i swoistość zachodzi podobnie, jak w innych proteazach serynowych [98].

Związanie plazminogenu z receptorami wyeksponowanymi na powierzchni komórek docelowych umożliwiające zawarte w jego strukturze domeny pastorałowe. Mają one charakterystyczne obszary zdolne do wiązania reszt lizynowych w receptorach (lysine-binding site – LBS). Domeny te tworzone są przez osiemdziesiąt reszt aminokwasowych i zawierają w swojej strukturze reszty anionowe Asp54 i Asp56, kluczowe dla jonowych interakcji z dystalnymi grupami aminowymi regionu LBS białek receptorowych oraz kationowe centrum z Arg70 oddziaływającą z karboksylową grupą występującą w LBS receptora. Dodatkowa stabilizacja oddziaływań zachodzi dzięki siłom van der Waalsa powstającym między grupami węglowodorowymi szkieletu węglowego białka receptorowego a hydrofobowymi resztami bocznymi Phe/Tyr35, Trp61, Tyr/Phe63 i Trp/Tyr71 zawartymi w strukturze domen [76]. Pozycje podanych reszt odpowiadają ich położeniu w pastorałowej domenie K1 i znajdują odpowiedniki w pozostałych [97]. Badania mechanizmów interakcji plazminy/plazminogenu z białkami receptorowymi możliwe były dzięki ustalonej strukturze przestrzennej czterech z pięciu domen: K1, K2, K4 i K5 [22,81,97,126]. Domeny pastorałowe różnią się stopniem powinowactwa do regionów LBS w receptorach. Domena K2 wykazuje słabsze wiązanie, niż K1, K4 i K5, a domena K3 nie ma powinowactwa do tego typu miejsc w receptorach, ponieważ ma słabsze centrum anionowe [76].

Proteolityczna aktywność plazminy jest wykorzystywana w wielu procesach zewnątrzkomórkowych. Poza zasadniczą funkcją związaną z rozkładaniem fibryny w procesie fibrynolizy, plazmina bierze udział w degradacji komponentów macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM), takich jak laminina, fibronektyna, żelatyna, proteoglikany [15]. Jest również zdolna do aktywacji metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej [64].

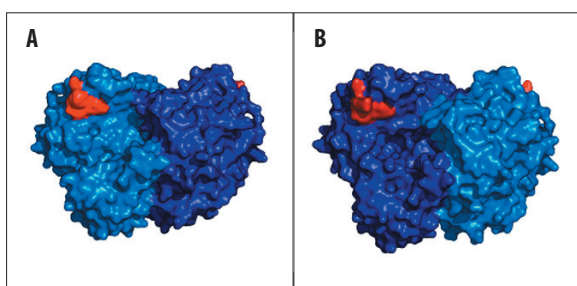
3. UDZIAŁ ENOLAZY RECEPTOROWEJ W PROCESIE INWAZYJNOŚCI PATOGENÓW BAKTERYJNYCH, GRZYBICZYCH I PASOŻYTÓW

Wiązanie plazminogenu na powierzchni komórek patogenów atakujących ustrój człowieka i jego aktywacja do plazminy jest jednym z mechanizmów inwazyjności. Taki sposób ułatwia migrację drobnoustrojów i wpływa na kolonizację tkanek zaatakowanego organizmu. Enolaza wyeksponowana na powierzchni komórek licznych szczepów bakterii Gram-dodatnich, grzybów i pasożytów wykazuje duże powinowactwo do plazminogenu.

Obecność enolazy jako białka wiążącego plazminogen na powierzchni komórek prokariota opisano po raz pierwszy w grupie A streptokoków – *Streptococcus pyogenes* [86]. Wcześniej zidentyfikowano inny enzym szlaku glikolizy, dehydrogenazę aldehydu 3-fosfoglicerynowego jako receptor powierzchniowy plazminogenu w tej grupie bakterii [85]. Okazało się, że powierzchniowa enolaza streptokoków wykazuje silniejsze powinowactwo do tego liganda, niż inne, poprzednio poznane w tej grupie bakterii recep-

Tabela 2. Porównanie dostępnych miejsc wiązania plazminogenu w enolazach streptokoków, wiciowca, człowieka, szczura i pierwotniaka (a [28], b [84] i c [113])

Organizm	Motyw wewnętrzny (BS2)	Reszta C-końcowa (BS1)	% Identyczności monomeru
<i>S. pneumoniae</i>	FYDKE--RKVY	KK	–
<i>S. pyogenes</i>	FYDKE--RKVY	KK	93
α -enolaza człowieka	FF-R-SG-K-Y	K	46
β -enolaza człowieka	FY-R-NG-K-Y	K	43,3
γ -enolaza człowieka	FY-R-DG-K-Y	H	43,8
α -enolaza szczura	FY-R-AG-K-Y	K	46
<i>Leishmania mexicana</i>	AYDAERKMY	–	–



Ryc. 2. Lokalizacja wewnętrznego motywu FYRDGKY jako potencjalnego miejsca wiązania plazminogenu na powierzchni enolazy neuronowoswoistej człowieka (A, B – rzuty dimeru odpowiednio z przodu i z tyłu). W strukturze homodimeru enolazy (pobrano z Protein Data Bank, kod 1TE6) kolorem jasnoniebieskim zaznaczono monomer A, monomer B – ciemnoniebieskim, a BS2 – region potencjalnie oddziałujący z plazminogenem wyróżniono kolorem czerwonym

tory [7,86]. Pierwotnie wykazano, że za wiązanie plazminogenu odpowiada C-końcowa reszta lizyny w monomerze enolazy [26]. W doświadczeniach Bergman i wsp. za pomocą mikroskopu elektronowego zlokalizowano enolazę w cytosolu i na powierzchni ściany komórkowej komórek *Streptococcus pneumoniae* [9,60]. W białku tym nie wykazano obecności ani sekwencji sygnałowej, ani motywu 6-aminokwasowego LPXTGX, zidentyfikowanego jako typowy dla białek kotwiczących na powierzchni komórek bakterii Gram-dodanych [34]. W sekwencji aminokwasowej powierzchniowej enolazy *S. pneumoniae* brak jest również powtarzających się hydrofobowych 20-aminokwasowych fragmentów, charakterystycznych dla białek powierzchniowych wiążących niekowalencyjnie cholinę na komórkach bakterii Gram-dodatnich [11,125]. Wykazano również, że wiązanie plazminogenu ludzkiego przez komórki bakterii *S. pneumoniae* zachodziło w regionach, w których wcześniej zidentyfikowano enolazę powierzchniową [9]. Wykorzystując zmutowane w rejonie C-końca warianty enolazy powierzchniowej *S. pneumoniae* ustalono, że istnieje w tym białku dodatkowe miejsce oddziaływania z plazminogenem, poza C-końcową resztą lizyny. Zlokalizowano je na zewnętrznej pętli łańcucha polipeptydowego jako nanopeptyd $^{248}\text{FYDKERKVVY}^{256}$ i nazwano obszarem BS2 (binding site 2) [8]. Motyw ten wykazywał znacznie większe powinowactwo do plazminogenu,

niż C-końcowa lizyna (region BS1) monomeru enolazy [28]. W znalezionej sekwencji decydującymi o wiązaniu z plazminogenem okazały się reszty D250, E252, K251, K254. Grupy boczne obu lizyn oddziałują jonowo z resztami asparaginianu i glutaminianu obszarów wiążących w pastorałkowych domenach plazminogenu. W enolazach innych bakterii znajduje się podobny fragment o bardzo wysokim stopniu identyczności [28], natomiast inaczej przedstawia się podobieństwo sekwencji w enolazach ludzkich, szczura i pierwotniaka *Leishmania mexicana* – jest nieco niższe (tabela 2).

Podane w tabeli 2 sekwencje wskazują na dużą konserwatywność struktury motywu wiążącego plazminogen w enolazach odległych ewolucyjnie.

W oparciu o znany model trójwymiarowy γ -enolazy ludzkiej [19], można też wyeksponować homologiczny fragment $^{250}\text{FYRDGKY}^{257}$, jako miejsce możliwej asocjacji plazminogenu z enolazą człowieka (ryc. 2).

W przeciwieństwie do dimerycznych enolaz znajdujących w większości organizmów eukariotycznych, natywna enolaza *S. pneumoniae* zarówno cytosolowa, jak i powierzchniowa jest oktamerym [28,84]. W ustalonej strukturze trójwymiarowej oktamerycznego białka streptokoków wykazano, że C-końcowe reszty lizyny są niedostępne dla plazminogenu, ale mają udział w oligomeryzacji dimerów do oktamery [28]. Wykazano, że komórki bakterii *S. pneumoniae* wykorzystując motyw nanopeptydowy enolazy powierzchniowej do wiązania plazminogenu, angażują go jako aktywną plazminę w trawieniu białek macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) – lamininy i fibronektyny [10].

Większość doniesień o receptorowych własnościach enolazy bakteryjnej koncentrowała się do niedawna na komórkach patogenów Gram-dodatnich. Niedawno również w grupie bakterii Gram-ujemnych wykazano u kilku szczepów *Enterobacteriaceae* obecność białek powierzchniowych reaktywnych wobec przeciwciał antyenolaza mięśniowa człowieka [124]. Z błony zewnętrznej ściany komórkowej bakterii *Klebsiella pneumoniae* wydzielone zostało białko o ciężarze cząsteczkowym 45 kDa i ruchliwości elektroforetycznej enolazy. Metodą masowej spektrometrii tandemowej wykazano obecność w nim fragmentów o sekwencjach homologicznych do występujących w enolazie ludzkiej [124].

Wykorzystując przeciwciała królicze przeciwko enolazie bakteryjne znakowane złotem, wykryto obecność enolazy w przestrzeni periplazmatycznej, w wewnętrznej i zewnętrznej błonie oraz cytosolu komórek Gram-ujemnego patogenu *Aeromonas hydrophila* [102]. Największy poziom enolazy stwierdzono w błonie zewnętrznej tych komórek.

Enolaza jest również jednym z białek o wysokiej ekspresji w komórkach grzybów [23,62,74]. Występuje nie tylko w cytosolu, ale również na powierzchni komórek *Candida albicans* i *Pneumocystis carinii* [38,54]. Badając oddziaływanie powierzchniowej enolazy komórek *C. albicans* z plazminogenem, wykazano ich hamowanie przez analog lizyny, kwas ϵ -aminokaproinowy. Związanie plazminogenu przez enolazę powierzchniową *C. albicans* zwiększało jego podatność na aktywację do plazminy przez bakteryjny aktywator plazminogenu – streptokinazę [54]. To decyduje o proteolitycznej aktywności komórek patogenu. Jest to jeden z istotnych czynników rozwoju kandydiozy. W badaniach *in vitro* wykazano też, że ten system pozwala komórkom *C. albicans* przekraczać barierę krew-mózg, a to może prowadzić do rozwoju zapalenia opon mózgowych [50,127].

W grupie pierwotniaków atakujących ustrój człowieka stwierdzono również udział powierzchniowej enolazy w wiązaniu plazminogenu i ułatwianie w ten sposób inwazyjności patogenom. W komórkach *Fasciola hepatica* enolaza powierzchniowa nie ma C-końcowej reszty lizyny jako miejsca wiązania ligandu, ale wykryto w niej charakterystyczny region o wysokiej homologii sekwencji w porównaniu z motywem zidentyfikowanym wcześniej w enolazie *S. pneumoniae* [12]. Podobny motyw wewnętrzny zlokalizowano w enolazie wyeksponowanej na powierzchni błon plazmatycznych *Leishmania mexicana*, wiciowca wywołującego leiszmaniozę skórą [113]. W oczyszczonej rekombinowanej enolazie pasożyta ustalono, że fragment ten znajduje się w łańcuchu monomeru w pozycji 247–259 i ma sekwencję AYDAERKMY (tabela 2). Przeciwciała antyenolazowe hamowały w 60% wiązanie plazminogenu na powierzchni komórek pierwotniaka.

W nicieniach *Onchocerca volvulus* pasożytujących w tkance podskórnej zidentyfikowano w enolazie hydrofobową domę, analogiczną do występującej w rejonie N-końcowym enolazy ludzkiej. Uznano ją za wewnętrzną sekwencję sygnałową i zasugerowano, że może służyć do kierowania białka na powierzchnię komórek. W badaniach serologicznych wykazano, że nicienie penetrując w stadium mikrofilaria ustrój gospodarza, wywołują immunogenność [53]. W puli przeciwciał obecnych w surowicy osób zakażonych znajdowano frakcję reaktywną wobec rekombinowanej enolazy. Ponadto wykazano zdolności receptorowe rekombinowanego białka enolazowego wobec plazminogenu ludzkiego [53]. W stadium mikrofilarialnym *Onchocerca volvulus* migrując poprzez tkanki gospodarza w kierunku skóry właściwej lub mięśni klatki piersiowej, wykorzystuje hydrolityczne własności proteaz własnych lub infekowanego ustroju. Jest to istotny etap w zachowaniu cyklu życiowego patogenu. Mikrofilie wydzielają do przestrzeni pozakomórkowej proteazę zdolną do trawienia elastyny jako składnika ECM, ale dodatkowe wykorzystanie plazminogenu ludzkiego przez enolazę powierzchniową komórek patogenu może nasilić degradację białek tego obszaru [53].

Pierwotniak *Schistosoma bovis* zagnieżdża się i przez lata żyje w naczyniach krwionośnych ustroju gospodarza [25]. Organizmy te muszą bronić się przed systemem obrony immunologicznej zasiedlanego ustroju. Oddziałując z czynnikami hemostazy są one zdolne do hamowania aktywacji płytek krwi i indukowania trombocytopenii, wskutek czego nie dochodzi do wytwarzania skrzepów krwi wokół dorosłych osobników [25,100,106]. Wykazano, że dorosłe osobniki wiążą powierzchniowo plazminogen, w sposób zależny od reszt lizyny [93]. W ten sposób wykorzystują jego aktywną plazminę do pobudzenia fibrynolizy, co pozwala chronić patogeny przed otaczaniem skrzepami. Metodami spektrometrii masowej zidentyfikowano dziesięć białek odpowiedzialnych za interakcję *Schistosoma bovis* z plazminogenem ludzkim, z których osiem stanowią izoformy enolazy [93].

4. ROLA SYSTEMU ENOLAZA-PLAZMINOGEN W PROCESIE MIOGENEZY

Miogeneza zachodzi zarówno podczas tworzenia mięśni szkieletowych w procesie rozwoju organizmu, jak i w regeneracji tkanki po uszkodzeniach. Jest to złożony proces, w którym mioblasty podlegają proliferacji, migracji i różnicowaniu. Podczas tworzenia mięśni szkieletowych dochodzi do pobudzenia proteolizy zewnątrzkomórkowej, co umożliwia migrację mioblastów poprzez blaszkę podstawną i ich fuzję w procesie tworzenia włókien [51]. Mają na to wpływ metaloproteinazy MMP-2 i MMP-9, jako proteazy trawiące białka ECM oraz katepsyna B, zdolna do aktywacji pro-uPA [42,44]. Aktywacja metaloproteinaz zachodzi w wyniku proteolizy pod wpływem plazminy [65]. Dysfunkcja plazminy lub zahamowanie uPA ogranicza migrację, fuzję i różnicowanie mioblastów [82,109]. Podobny efekt wywołany jest przez alfa-2-antyplazminę, jako inhibitora plazminy [108].

W badaniach zespołu Munoz-Canoves po raz pierwszy wykazano, że podlegające fuzji i różnicowaniu mioblasty szkieletowe mają wyeksponowaną na powierzchni komórek α -enolazę jako receptor plazminogenu. Prowadzi to do ząszczania tego liganda na powierzchni komórek miogennych i nasilenia procesu aktywacji plazminy. W linii komórkowej C2C12 mysich mioblastów wykazano, że ekspresja α -enolazy jako białka receptorowego znacząco nasila się podczas różnicowania komórek. Monoklonalne przeciwciała anti- α -enolaza blokowały wiązanie plazminogenu na powierzchni tych komórek i całkowicie hamowały ich fuzję i różnicowanie *in vitro* [72,73].

Aktywność plazminy ma pierwszorzędne znaczenie nie tylko w miogenezie, ale również w procesach naprawczych uszkodzonej tkanki mięśniowej. W mięśniach szkieletowych zdegenerowanych w wyniku uszkodzeń dochodzi m.in. do dużej akumulacji fibryny w zewnątrzkomórkowej błonie podstawnej mięśnia [108]. Wskutek tego utrudnione jest docieranie komórek makrofagów, monocytów, limfocytów, do miejsca uszkodzenia. Migrację tych komórek do obszarów zapalnych umożliwia ten sam system: związana na ich powierzchni przez białka receptorowe plazmina zdolna do degradacji fibryny i białek ECM [31]. Sugeruje się, że enolaza pełni dominującą rolę receptorową dla tego liganda [71]. Ekspresja α -enolazy i aktywność plazminy podlegają znaczącej indukcji w regenerowanym

mięśni szkieletowym *in vivo*, zarówno w doświadczalnie wywołanym uszkodzeniu, jak i w mysim modelu dystrofii Duchenne'a [72].

5. SYSTEM ENOLAZA-PLAZMINOGEN W MIGRACJI KOMÓREK NOWOTWOROWYCH I PRZERZUTACH

Wzrost inwazyjności komórek nowotworowych i stan metastazy jest ściśle zależny od tempa remodelowania tkanki otaczającej guz. Związane jest to m.in. z poziomem aktywności plazminogenu do plazminy na powierzchni komórek i uzyskiwaniem przez nie aktywności proteolitycznej. O skuteczności wiązania plazminogenu przez komórki nowotworowe decyduje poziom ekspresji powierzchniowych receptorów tego liganda [94].

W tkankach nowotworowych wzrasta tempo glikolizy tlenowej, ponieważ potrzebne są duże ilości ATP na nasiloną proliferację komórek. Wśród kilku możliwych zjawisk stymulujących spalanie glukozy obserwowano nadekspresję enzymów szlaku glikolitycznego, co wyraźnie korelowało ze zjawiskiem złośliwienia komórek guza. Wzrost ekspresji α -enolazy wykazano w 18 rodzajach nowotworów [4]. Zaobserwowano wyraźną korelację pomiędzy wzrostem jej poziomu, a rozwojem guzów neuroendokrynych, neuroblastomy, raków płuc [84]. W takich stanach chorobowych wykazano w surowicy wzrost stężenia enolazy neuronowoswoistej (izoenzym $\gamma\gamma$ i $\alpha\gamma$) i uznawano ten czynnik za marker diagnostyczny [29]. Jest on jednak nieswoisty i użyteczny bardziej w monitorowaniu stopnia rozwoju choroby i postępu terapii w zaawansowanych nowotworach [84].

Metodami immunohistochemicznymi, elektroforetycznymi i w spektrometrii masowej wykazano znaczący wzrost poziomu α -enolazy w komórkach raka płuc drobnokomórkowego [128] i niedrobnokomórkowego [21,48]. W komórkach tych α -enolaza obecna jest w cytosolu, gdzie może asocjować z białkami cytoszkieletu, co ułatwia migrację komórek [5,57]. Natomiast na powierzchni komórek raka płuc niedrobnokomórkowego zlokalizowano α -enolazę, która powoduje lokalny, przykomórkowy wzrost gęstości plazminogenu [48]. Wpływa to na zwiększenie szybkości degradacji fibryny oraz białek ECM przez komórki guza. Ma to znaczenie nie tylko w remodelowaniu tkanki otaczającej guz, ale również w inwazji komórek nowotworowych i metastazie [68,96]. Wykazano, że obserwowany wysoki poziom ekspresji powierzchniowej α -enolazy w komórkach raka płuc niedrobnokomórkowego korelował ze skróceniem okresu wolnego od progresji i ze spadkiem przeżywalności pacjentów [21].

6. AUTOIMMUNOGENNOŚĆ ENOLAZY POWIERZCHNIOWEJ

Powierzchniowa enolaza komórek bakteryjnych i grzybów atakujących organizm człowieka może mieć udział w rozwoju procesów chorobowych o charakterze autoimmunologicznym [112]. Wynika to z dużej homologii strukturalnej tego białka w ustroju człowieka i w niższych organizmach [84,89]. Obserwowane między antygenami obcymi i gospodarza pewne podobieństwo strukturalne (dotyczące sekwencji aminokwasowej lub konformacji), serologiczne lub biologiczne, zwane mimikrą cząsteczkową, może powodować skierowanie odpowiedzi immunolo-

gicznej przeciw własnym białkom. Jest ono uznawane za jeden z istotnych czynników rozwoju chorób autoimmunologicznych [13,123].

W wielu doniesieniach wykazano immunoreaktywność krzyżową enolazy ludzkiej i enolazy powierzchniowej komórek bakteryjnych, zarówno szczepów Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych. Przeciwciała swoiste wobec mięśniowoswoistej enolazy człowieka tworzyły kompleksy z enolazopodobnym białkiem ściany zewnętrznej komórki *Klebsiella pneumoniae* i białkami o podobnej ruchliwości elektroforetycznej wydzielonymi z błon zewnętrznych komórek ośmiu innych szczepów *Enterobacteriaceae* oraz z *Pseudomonas aeruginosa* [124]. Wyizolowane z powierzchni komórek *K. pneumoniae* białko enolazowe okazało się reaktywne wobec frakcji IgG surowic pacjentów z chorobą Buergera i miażdżycą, co może wskazywać na podłoże infekcyjne tych stanów chorobowych. W oparciu o badania w spektrometrii masowej fragmentów obu białek – ludzkiego i bakteryjnego, znaleziono kilka identycznych sekwencji. Występują one w domenie C-końcowej enolazy mięśniowej człowieka.

Na własności immunogenne enolazy paciorkowców wskazał Whiting i wsp. [119]. Przeciwciała obecne w surowicach pacjentów z bakteriami wywołaną przez *Streptococcus pneumoniae* reagowały z α -enolazą powierzchniową komórek tych bakterii. W surowicach pacjentów z gorączką reumatyczną wywołaną przez infekcje paciorkowcami występował znacznie wyższy poziom przeciwciał reaktywnych wobec enolazy ludzkiej i bakteryjnej, niż w grupie kontrolnej osób zdrowych [35]. Metodą cytometrii przepływowej wykazano, że przeciwciała przeciwko enolazie powierzchniowej streptokoków reagują z enolazą wyekspozowaną na powierzchni komórek hematopoetycznych gospodarza [35]. Wyniki badań Fontan i wsp. wskazują, że ekspresja enolazy na powierzchni infekujących komórek *Streptococcus* pobudza układ immunologiczny gospodarza do wytwarzania przeciwciał, które wchodzi w reakcję z enolazą obecną na powierzchni komórek tego układu. Taka reakcja krzyżowa może prowadzić do opsonizacji lub niszczenia komórek obronnych, co może utrudniać zwalczanie infekcji [35].

Infekcje *Candida albicans* również wywołują w ustroju człowieka i niższych ssaków wytwarzanie przeciwciał skierowanych przeciwko enolazie wyekspozowanej na powierzchni komórek patogenu [30,111]. Sugeruje się, że surowicze IgG przeciwko enolazie ściany komórkowej *C. albicans* mogą być dogodnym markerem układowej kandydiozy, pojawiającym się wcześniej, niż znane dotychczas markery diagnostyczne. Mogą one służyć w monitorowaniu terapii, co jest istotne w obniżaniu ryzyka śmierci pacjentów. Interesujące jest, że śmiertelność w grupie pacjentów, którzy byli seropozytywni dla przeciwciał swoistych wobec enolazy powierzchniowej komórek *C. albicans* była mniejsza, niż w grupie seronegatywnej [90]. Wskazuje to na możliwość potencjalnego wykorzystania przeciwciał przeciwko enolazie *C. albicans* jako czynnika blokującego w układzie krążenia interakcje plazminogenu ludzkiego z receptorem enolazowym na powierzchni komórek patogenu, co mogłoby osłabiać jego inwazyjność [54].

Pojawianie się w surowicy przeciwciał anti- α -enolaza wykazano w różnorodnych chorobach autoimmunologicz-

nych i zapalnych, nie tylko o podłożu infekcyjnym [41,112]. Wprawdzie wyklucza to pulę tych przeciwciał jako swoistych czynników diagnostycznych, ale mogą być one użyteczne w monitorowaniu terapii.

Wysokie miano autoprzeciwciał antyenolazowych często stwierdzane było w chorobach tkanki łącznej [80]. Niski ich poziom występował w chorobach wątroby, z wyjątkiem szybko rozwijającego się autoimmunologicznego zapalenia wątroby i żółciowej marskości wątroby [3,14]. W tym drugim przypadku, przy braku korelacji poziomu autoprzeciwciał z obrazem klinicznym choroby, śmiertelność pacjentów z wysokim ich mianem w surowicy była większa, niż w grupie seronegatywnej.

Autoprzeciwciała antyenolazowe zidentyfikowano w surowicach pacjentów z układowym toczniem rumieniowatym, miażdżycą, krioglobulinemią typu mieszanego [40,92]. W wyniku tworzenia kompleksów tych przeciwciał z antygenem powierzchniowym komórek nerek oraz błon śródbłonna naczyń tej tkanki dochodziło do poważnych jej uszkodzeń i zaburzenia funkcji fizjologicznych. Wiązanie autoprzeciwciał przez enolazę powierzchniową śródbłonna może hamować miejscowo system aktywacji fibrynolizy, z jednoczesną stymulacją kaskady krzepnięcia, co nasila procesy miażdżycowe. W nefropatii pierwotnej, jak i wtórnej – rozwijającej się jako powikłanie w gorączce reumatycznej i w toczniu układowym, wykazano obecność autoprzeciwciał na α -enolazę w surowicach 60–70% pacjentów [114].

W retinopatii towarzyszącej białaczce limfatycznej, nowotworom płuc, sutka, prostaty, przewodu pokarmowego wykazano, że przeciwciała wytwarzane przeciwko α -enolazie wywołują degenerację siatkówki [2]. Przeciwciała anty- α -enolaza mogą przenikać tkankę siatkówki, docierając do komórek zwojowych i do komórek wewnętrznej war-

stwy jądra, a następnie indukować śmierć tych komórek w wyniku apoptozy. Badając przyczyny takiego zjawiska wykazano, że przeciwciała te znacząco hamowały aktywność katalityczną enolazy w komórkach, co obniżało poziom ATP generowanego na szlaku glikolizy. Jednocześnie zaobserwowano wzrost poziomu Ca^{2+} wewnątrzkomórkowego, przemieszczenie białka Bax do mitochondriów i uwalnianie z nich cytochromu c do cytoplazmy. W konsekwencji wywołana śmierć komórek prowadziła do utraty zdolności widzenia. Z nagłą utratą widzenia w retinopatii towarzyszącej nowotworom związane jest wysokie miano przeciwciał antyenolazowych. Symptomy utraty wzroku następują jeszcze przed rozpoznaniem choroby nowotworowej lub jej nawrotem [75].

UWAGI KOŃCOWE

Enolaza przez wiele lat znana była wyłącznie jako enzym szlaku glikolizy. Dobrze opisano jej własności katalityczne i molekularne w wielu organizmach, nawet bardzo odległych ewolucyjnie. Jest to białko wysoce konserwatywne. Wiele badań potwierdza jego nowe, nieenzymatyczne funkcje w różnych procesach biologicznych. Szczególnie interesująca jest rola enolazy jako receptora plazminogenu na powierzchniach wielu komórek eukariota i prokariota. Uzyskują one aktywność proteolityczną, ważną nie tylko w układzie fibrynolizy. Ma to znaczenie w miogeniezie, w rozroście tkanek nowotworowych, w inwazyjności patogenów. Powierzchniowa enolaza komórek patologicznych jest źródłem autoprzeciwciał wykrytych w wielu chorobach autoimmunologicznych.

Uzasadnione byłoby rozwinięcie dotychczasowych badań oddziaływania enolazy z plazminogenem w kierunku wpływu na ten proces wolnych rodników tlenowych powstających w szoku tlenowym oraz reaktywnych związków karbonylowych generowanych w stresie karbonylowym.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Aaronson R.M., Graven K.K., Tucci M., Mc Donald R.J., Farber H.W.: Non-neuronal enolase is an endothelial hypoxic stress protein. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 27752–27757
- [2] Adamus G., Aptsiauri N., Guy J., Heckenlively J., Flannery J., Hargrave P.A.: The occurrence of serum autoantibodies against enolase in cancer-associated retinopathy. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 1996; 78: 120–129
- [3] Akisawa N., Maeda T., Iwasaki S., Onishi S.: Identification of an autoantibody against alpha-enolase in primary biliary cirrhosis. *J. Hepatol.*, 1997; 26: 845–851
- [4] Altenberg B., Greulich K.O.: Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes. *Genomics*, 2004; 84: 1014–1020
- [5] Andreassen P.A., Egelund R., Petersen H.H.: The plasminogen activation system in tumor growth, invasion, and metastasis. *Cell Mol. Life Sci.*, 2000; 57: 25–40
- [6] Barbieri G., De Angelis L., Feo S., Cossu G., Giallongo A.: Differential expression of muscle-specific enolase in embryonic and fetal myogenic cells during mouse development. *Differentiation*, 1990; 45: 179–184
- [7] Berge A., Sjobring U.: PAM, a novel plasminogen-binding protein from *Streptococcus pyogenes*. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 25417–25424
- [8] Bergmann S., Rohde M., Chhatwal G.S., Hammerschmidt S.: Characterization of plasmin(ogen) binding to *Streptococcus pneumoniae*. *Indian J. Med. Res.*, 2004; 119 Suppl.: 29–32
- [9] Bergmann S., Rohde M., Chhatwal G.S., Hammerschmidt S.: alpha-Enolase of *Streptococcus pneumoniae* is a plasmin(ogen)-binding protein displayed on the bacterial cell surface. *Mol. Microbiol.*, 2001; 40: 1273–1287
- [10] Bergmann S., Rohde M., Preissner K.T., Hammerschmidt S.: The nine residue plasminogen-binding motif of the pneumococcal enolase is the major cofactor of plasmin-mediated degradation of extracellular matrix, dissolution of fibrin and transmigration. *Tromb. Haemost.*, 2005; 94: 304–311
- [11] Bergmann S., Wild D., Diekmann O., Frank R., Bracht D., Chhatwal G.S., Hammerschmidt S.: Identification of a novel plasminogen-binding motif in surface displayed α -enolase of *Streptococcus pneumoniae*. *Mol. Microbiol.*, 2003; 49: 411–423
- [12] Bernal D., de la Rubia J.E., Carrasco-Abad A.M., Toledo R., Mas-Coma S., Marcilla A.: Identification of enolase as a plasminogen-binding protein in excretory-secretory products of *Fasciola hepatica*. *FEBS Lett.*, 2004; 563: 203–206
- [13] Blank M., Barzilai O., Shoenfeld Y.: Molecular mimicry and autoimmunity. *Clin. Rev. Allergy Immunol.*, 2007; 32: 111–118
- [14] Bogdanos D.P., Gilbert D., Bianchi I., Leoni S., Mitry R.R., Ma Y., Mieli-Vergani G., Vergani D.: Antibodies to soluble liver antigen and alpha-enolase in patients with autoimmune hepatitis. *J. Autoimmune Dis.*, 2004; 1: 4
- [15] Bonnefoy A., Legrand C.: Proteolysis of subendothelial adhesive glycoproteins (fibronectin, thrombospondin, and von Willebrand factor) by plasmin, leukocyte cathepsin G, and elastase. *Thromb. Res.*, 2000; 98: 323–332
- [16] Botalico L.A., Kendrick N.C., Keller A., Li Y., Tabas I.: Cholesteryl ester loading of mouse peritoneal macrophages is associated with changes in the expression or modification of specific cellular proteins, including increase in an α -enolase isoform. *Atheroscler. Thromb.*, 1993; 13: 264–275

- [17] Brandina I., Graham J., Lemaître-Guillier C., Entelis N., Krasheninnikov I., Sweetlove L., Tarassov I., Martin R.P.: Enolase takes part in a macromolecular complex associated to mitochondria in yeast. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006; 1757: 1217–1228
- [18] Brewer J.M.: Specificity and mechanism of action of metal ions in yeast enolase. *FEBS Lett.*, 1985; 182: 8–14
- [19] Chai G., Brewer J.M., Lovelace L.L., Aoki T., Minor W., Lebioda L.: Expression, purification and the 1.8 Å resolution crystal structure of human neuron specific enolase. *J. Mol. Biol.*, 2004; 341: 1015–1021
- [20] Chandran V., Luisi B.F.: Recognition of enolase in the *Escherichia coli* RNA degradosome. *J. Mol. Biol.*, 2006; 358: 8–15
- [21] Chang G.C., Liu K.J., Hsieh C.L., Hu T.S., Charoenfuprasert S., Liu H.K., Luh K.T., Hsu L.H., Wu C.W., Ting C.C., Chen C.Y., Chen K.C., Yang T.Y., Chou T.Y., Wang W.H., Whang-Peng J., Shih N.Y.: Identification of α -enolase as an autoantigen in lung cancer: its overexpression is associated with clinical outcomes. *Clin. Cancer Res.*, 2006; 12: 5746–5754
- [22] Chang Y., Mochalkin I., McCance S.G., Cheng B., Tulinsky A., Castellino F.J.: Structure and ligand binding determinants of the recombinant kringle 5 domain of human plasminogen. *Biochemistry*, 1998; 37: 3258–3271
- [23] Chin C.C., Brewer J.M., Wold F.: The amino acid sequence of yeast enolase. *J. Biol. Chem.*, 1981; 256: 1377–1384
- [24] Craig S.P., Day I.N., Thompson R.J., Craig I.W.: Localisation of neuron-specific enolase (ENO2) to 12p13. *Cytogenet. Cell Genet.*, 1990; 54: 71–73
- [25] DeMarco R., Kowaltowski A.T., Mortara R.A., Verjovski-Almeida S.: Molecular characterization and immunolocalization of *Schistosoma mansoni* ATP-diphosphohydrolase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003; 307: 831–838
- [26] Derbise A., Song Y.P., Parikh S., Fischetti V.A., Pancholi V.: Role of the C-terminal lysine residues of streptococcal surface enolase in Glu- and Lys-plasminogen-binding activities of group A streptococci. *Infect. Immun.*, 2004; 72: 94–105
- [27] Dudani A.K., Cummings C., Hashemi S., Ganz P.R.: Isolation of a novel 45 kDa plasminogen receptor from human endothelial cells. *Thromb. Res.*, 1993; 69: 185–196
- [28] Ehinger S., Schubert W.D., Bergmann S., Hammerschmidt S., Heinz D.W.: Plasmin(ogen)-binding alpha-enolase from *Streptococcus pneumoniae*: crystal structure and evaluation of plasmin(ogen)-binding sites. *J. Mol. Biol.*, 2004; 343: 997–1005
- [29] Erikson B., Oberg K., Stridsberg M.: Tumor markers in neuroendocrine tumors. *Digestion*, 2000; 62: S33–S38
- [30] Eroles P., Sentandreu M., Elorza M.V., Sentandreu R.: The highly immunogenic enolase and HSP70p are adventitious *Candida albicans* cell wall proteins. *Microbiology*, 1997; 143: 313–320
- [31] Felez J.: Plasminogen binding to the cell surfaces. *Fibrinolysis Proteolysis*, 1998; 12: 183–189
- [32] Feo S., Arcuri D., Piddini E., Passantino R., Giallongo A.: ENO1 gene product binds to the *c-myc* promoter and acts as a transcriptional repressor relationship with Myc promoter-binding protein 1(MBP-1). *FEBS Lett.*, 2000; 473: 47–52
- [33] Feo S., Oliva D., Barbieri G., Xu W.M., Fried M., Giallongo A.: The gene for the muscle-specific enolase is on the short arm of human chromosome 17. *Genomics*, 1990; 6: 192–194
- [34] Fischetti V.A., Pancholi V., Schneewind O.: Conservation of hexapeptide sequence in the anchor region of surface proteins from gram-positive cocci. *Mol. Microbiol.*, 1990; 4: 1603–1605
- [35] Fontan P.T., Pancholi V., Nociari M.M., Fischetti V.A.: Antibodies to streptococcal surface enolase react with human α -enolase: implications in poststreptococcal sequelae. *J. Infect. Dis.*, 2000; 182: 1712–1721
- [36] Forsgren M., Raden B., Israelsson M., Larsson K., Heden L.O.: Molecular cloning and human characterization of a full-length cDNA clone for human plasminogen. *FEBS Lett.*, 1987; 213: 254–260
- [37] Foucault G., Vacher M., Merkulova T., Keller A., Arrio-Dupont M.: Presence of enolase in the M-band of skeletal muscle and possible indirect interaction with the cytosolic muscle isoform of creatine kinase. *Biochem. J.*, 1999; 338: 115–121
- [38] Fox D., Smulian A.G.: Plasminogen-binding activity of enolase in the opportunistic pathogen *Pneumocystis carinii*. *Med. Mycol.*, 2001; 39: 495–507
- [39] Gavin A.C., Bösch M., Krause R., Grandi P., Marzioch M., Bauer A., Schultz J., Rick J.M., Michon A.M., Cruciat C.M., Remor M., Höfert C., Schelder M., Brajenovic M., Ruffner H., Merino A., Klein K., Hudak M., Dickson D., Rudi T., Gnau V., Bauch A., Bastuck S., Huhse B., Leutwein C., Heurtier M.A., Copley R.R., Edelmann A., Querfurth E., Rybin V., Drewes G., Raida M., Bouwmeester T., Bork P., Seraphin B., Kuster B., Neubauer G., Superti-Furga G.: Functional organization of the yeast proteome by systematic analysis of protein complexes. *Nature*, 2002: 141–147
- [40] Gitlits V.M., Sentry J.W., Matthew M.L., Smith A.I., Toh B.H.: Autoantibodies to evolutionarily conserved epitopes of enolase in a patient with discoid lupus erythematosus. *Immunology*, 1997; 92: 362–368
- [41] Gitlits V.M., Toh B.H., Sentry J.W.: Disease association, origin, and clinical relevance of autoantibodies to the glycolytic enzyme enolase. *J. Investig. Med.*, 2001; 49: 138–145
- [42] Gogos J.A., Thompson R., Lowry W., Sloane B.F., Weintraub H., Horwitz M.: Gene trapping in differentiating cell lines: regulation of the lysosomal protease cathepsin B in skeletal myoblast grown and fusion. *J. Cell Biol.*, 1996; 134: 837–847
- [43] Graven K.K., Zimmerman L.H., Dickson E.W., Weinhouse G.L., Farber H.W.: Endothelial cell hypoxia associated proteins are cell and stress specific. *J. Cell. Physiol.*, 1993; 157: 544–554
- [44] Guerin C.W., Holland P.C.: Synthesis and secretion of matrix-degrading metalloproteinases by human skeletal muscle satellite cells. *Dev. Dyn.*, 1995; 202: 91–99
- [45] Hayes M.L., Castellino F.J.: Carbohydrate of human plasminogen variants. I. Carbohydrate composition and glycopeptide isolation and characterization. *J. Biol. Chem.*, 1979; 254: 8768–8771
- [46] Hayes M.L., Castellino F.J.: Carbohydrate of human plasminogen variants. II. Structure of the asparagine-linked oligosaccharide unit. *J. Biol. Chem.*, 1979; 254: 8772–8776
- [47] Hayes M.L., Castellino F.J.: Carbohydrate of human plasminogen variants. III. Structure of the O-glycosidically-linked oligosaccharide unit. *J. Biol. Chem.*, 1979; 254: 8777–8780
- [48] He P., Naka T., Serada S., Fujimoto M., Tanaka T., Hashimoto S., Shima Y., Yamadori T., Suzuki H., Hirashima T., Matsui K., Shiono H., Okumura M., Nishida T., Tachibana I., Norioka N., Norioka S., Kawase I.: Proteomics-based identification of α -enolase as a tumor antigen in non-small lung cancer. *Cancer Sci.*, 2007; 98: 1234–1240
- [49] Hochachka P.W.: Defense strategies against hypoxia and hypothermia. *Science*, 1986; 231: 234–242
- [50] Huang S.H., Jong A.Y.: Cellular mechanism of microbial proteins contributing to invasion of the blood-brain barrier. *Cell Microbiol.*, 2001; 3: 277–287
- [51] Hughes S.M., Blau H.M.: Migration of myoblasts across basal lamina during skeletal muscle development. *Nature*, 1990; 345: 350–353
- [52] Iida H., Yahara I.: Yeast heat-shock protein of Mr 48,000 is an isoprotein of enolase. *Nature*, 1985; 314: 688–690
- [53] Jolodar A., Fischer P., Bergmann S., Büttner W., Hammerschmidt S., Brattig N.W.: Molecular cloning of α -enolase from the human filarial parasite *Onchocerca volvulus* that binds human plasminogen. *Biochim. Biophys. Acta*, 2003; 1627: 111–120
- [54] Jong A.Y., Chen S.H., Stins M.F., Kim K.S., Tuan T.L., Huang S.H.: Binding of *Candida albicans* enolase to plasmin(ogen) results in enhanced invasion of human brain microvascular endothelial cells. *J. Med. Microbiol.*, 2003; 52: 615–622
- [55] Keller A., Demeurie J., Merkulova T., Geraud G., Cywiner-Golenzer C., Lucas M., Chatelet F.P.: Fibre-type distribution and subcellular localization of α and β enolase in mouse striated muscle. *Biol. Cell*, 2000; 92: 527–535
- [56] Keller A., Ott M.O., Lamande N., Lucas M., Gros F., Buckingham M., Lazar M.: Activation of the gene encoding the glycolytic enzyme β -enolase during early myogenesis precedes an increased expression during fetal muscle development. *Mech. Dev.*, 1992; 38: 41–54
- [57] Keller A., Peltzer J., Carpentier G., Horvath I., Olah J., Duchesnay A., Orosz F., Ovadi J.: Interactions of enolase isoforms with tubulin and microtubules during myogenesis. *Biochim. Biophys. Acta*, 2007; 1770: 919–926
- [58] Kimata K., Tanaka Y., Inada T., Aiba H.: Expression of the glucose transporter gene, pTsG, is regulated at the mRNA degradation step in response to glycolytic flux in *Escherichia coli*. *EMBO J.*, 2001; 20: 3587–3595
- [59] Knull H.R., Walsh J.L.: Association of glycolytic enzyme with the cytoskeleton. *Curr. Top. Cell. Regul.*, 1992; 33: 15–30

- [60] Kolberg J., Aase A., Bergmann S., Herstad T.K., Rodal G., Frank R., Rohde M., Hammerschmidt S.: *Streptococcus pneumoniae* enolase is important for plasminogen binding despite low abundance of enolase protein on the bacterial cell surface. *Microbiology*, 2006; 152: 1307–1317
- [61] Kuhnel K., Luisi B.F.: Crystal structure of *Escherichia coli* RNA degradosome component enolase. *J. Mol. Biol.*, 2001; 313: 583–592
- [62] Kustrzeba-Wójcicka I., Golczak M.: Enolase from *Candida albicans* – purification and characterization. *Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.*, 2000; 126: 109–120
- [63] Lahteenmaki K., Kuusela P., Korhonen T.K.: Bacterial plasminogen activators and receptors. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2001; 25: 531–552
- [64] Lijnen H.R.: Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thromb. Haemost.*, 2001; 86: 324–333
- [65] Lijnen H.R., Van Hoef B., Lupu F., Moons L., Carmeliet P., Collen D.: Function of the plasminogen/plasmin and matrix proteinase systems after vascular injury in mice with targeted inactivation of fibrinolytic system genes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 1035–1045
- [66] Liliom K., Wagner G., Kovacs J., Comin B., Cascante M., Orosz F., Ovadi J.: Combined enhancement of microtubule assembly and glucose metabolism in neuronal systems *in vitro*: decreased sensitivity to copper toxicity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1999; 264: 605–610
- [67] Liou G.G., Jane W.N., Cohen S.N., Lin N.S., Lin-Chao S.: RNA degradosomes exist *in vivo* in *Escherichia coli* as a multicomponent complex associated with the cytoplasmic membrane via the N-terminal region of ribonuclease E. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 63–68
- [68] Liu K.J., Shih N.Y.: The role of enolase in tissue invasion and metastasis of pathogens and tumor cells. *J. Cancer Mol.*, 2007; 3: 45–48
- [69] Llinas M.: The Llinas Group. www.chem.cmu.edu/groups/Llinas (23.10.2007)
- [70] Lohman K., Meyerhof O.: Enzymatic transformation of phosphoglyceric acid into pyruvic acid and phosphoric acid. *Biochem. Z.*, 1934; 273: 60–72
- [71] Lopez-Alemany R., Longstaff C., Hawley S., Mirshali M., Fabregas P., Jardi M., Merton E., Miles L.A., Felez J.: Inhibition of cell surface mediated plasminogen activation by a monoclonal antibody against α -enolase. *Am. J. Hematol.*, 2003; 72: 234–242
- [72] Lopez-Alemany R., Suelves M., Diaz-Ramos A., Vidal B., Munoz-Canoves P.: Alpha-enolase plasminogen receptor in myogenesis. *Front. Biosci.*, 2005; 10: 30–36
- [73] Lopez-Alemany R., Suelves M., Munoz-Canoves P.: Plasmin generation dependent on alpha-enolase-type plasminogen receptor is required for myogenesis. *Thromb. Haemost.*, 2003; 90: 724–733
- [74] Machida M., Chang Y.C., Manabe M., Yasukawa M., Kunihiro S., Jigami Y.: Molecular cloning of a cDNA encoding enolase from the filamentous fungus, *Aspergillus oryzae*. *Curr. Genet.*, 1996; 30: 423–431
- [75] Magrys A., Anekonda T., Ren G., Adamus G.: The role of anti- α -enolase autoantibodies in pathogenicity of autoimmune-mediated retinopathy. *J. Clin. Immunol.*, 2007; 27: 181–192
- [76] Menziani M.C., Benedetti P.G., Langella E., Barone V.: Seeking for binding determinants of the prion protein to human plasminogen. *Molecular Physics*, 2003; 101: 2763–2773
- [77] Milczak A., Kabardin V.R., Wei C.L., Lin-Chao S.: Proteins associated with RNase E in a multicomponent ribonucleolytic complex in *Escherichia coli*. *Genes Dev.*, 1996; 17: 2374–2383
- [78] Morita T., El-Kazzaz W., Tanaka Y., Inada T., Aiba H.: Accumulation of glucose-6-phosphate or fructose-6-phosphate is responsible for destabilization of glucose transporter mRNA in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 15608–15614
- [79] Morita T., Kawamoto H., Mizota T., Inada T., Aiba H.: Enolase in the RNA degradosome plays a crucial role in the rapid decay of glucose transporter mRNA in response to phosphosugar stress in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, 2004; 54: 1063–1075
- [80] Moscato S., Pratesi F., Sabbatini A., Chimenti D., Scavuzzo M., Passatino R., Bombardieri S., Giallongo A., Migliorini P.: Surface expression of a glycolytic enzyme, α -enolase, recognized by autoantibodies in connective tissue disorders. *Eur. J. Immunol.*, 2000; 30: 3575–3584
- [81] Mulichak A.M., Tulinsky A., Ravichandran K.G.: Crystal and molecular structure of human plasminogen kringle 4 refined at 1.9- resolution. *Biochemistry*, 1991; 30: 10576–10588
- [82] Munoz-Canoves P., Miralles F., Baiget M., Felez J.: Inhibition of urokinase-type plasminogen activator (uPA) abrogates myogenesis *in vitro*. *Thromb. Haemost.*, 1997; 77: 526–534
- [83] Nicholl S.M., Roztocil E., Davies M.G.: Plasminogen activator system and vascular disease. *Curr. Vasc. Pharmacol.*, 2006; 4: 101–116
- [84] Pancholi V.: Multifunctional α -enolase: its role in diseases. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2001; 58: 902–920
- [85] Pancholi V., Fischetti V.A.: A major surface protein on group A streptococci is a glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase with multiple binding activity. *J. Exp. Med.*, 1992; 176: 415–426
- [86] Pancholi V., Fischetti V.A.: α -Enolase, a novel strong plasminogen binding protein on the surface of pathogenic streptococci. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 14503–14515
- [87] Parry M.A., Zhang X.C., Bode I.: Molecular mechanisms of plasminogen activation: bacterial cofactors provide clues. *Trends Biochem. Sci.*, 2000; 25: 53–59
- [88] Petersen T.E., Martzen M.R., Ichinose A., Davie E.W.: Characterization of the gene for human plasminogen, a key proenzyme in the fibrinolytic system. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 6104–6111
- [89] Piast M., Kustrzeba-Wójcicka I., Matusiewicz M., Banaś T.: Molecular evolution of enolase. *Acta Biochim. Pol.*, 2005; 52: 507–513
- [90] Pitarch A., Jimenez A., Nombelat C., Gil C.: Decoding serological response to *Candida albicans* cell wall immunome into novel diagnostic, prognostic, and therapeutic candidates for systemic candidiasis by proteomic and bioinformatics analyses. *Mol. Cell Proteomics*, 2006; 5: 79–96
- [91] Poyner R.R., Cleland W.W., Reed G.H.: Role of metal ions in catalysis by enolase: an ordered kinetic mechanism for a single substrate enzyme. *Biochemistry*, 2001; 40: 8009–8017
- [92] Pratesi F., Moscato S., Sabbatini A., Chimenti D., Bombardieri S., Migliorini P.: Autoantibodies specific for α -enolase in systemic autoimmune disorders. *J. Rheumatol.*, 2000; 27: 109–115
- [93] Ramajo-Hernandez A., Perez-Sanchez R., Ramajo-Martin V., Oleaga A.: *Schistosoma bovis*: Plasminogen binding in adults and the identification of plasminogen-binding proteins from the worm tegument. *Exp. Parasitology*, 2007; 115: 83–91
- [94] Ranson M., Andronicos N.M.: Plasminogen binding and cancer: promises and pitfalls. *Front. Biosci.*, 2003; 8: 294–304
- [95] Redlitz A., Fowler B.J., Plow E.F., Miles L.A.: The role of an enolase-related molecule in plasminogen binding to cells. *Eur. J. Biochem.*, 1995; 227: 405–415
- [96] Reuning U., Magdolen V., Wilhelm O., Fischer K., Lutz V., Graeff H., Schmitt M.: Multifunctional potential of the plasminogen activation system in tumor invasion and metastasis. *Int. J. Oncol.*, 1998; 13: 893–906
- [97] Rios-Steiner J.L., Schenone M., Mochalkin I., Tulinsky A., Castellino F.J.: Structure and binding determinants of the recombinant kringle-2 domain of human plasminogen to an internal peptide from a group A Streptococcal surface protein. *J. Mol. Biol.*, 2001; 308: 705–719
- [98] Robbins K.C., Bernabe P., Arzadon L., Summaria L.: The primary structure of human plasminogen. I. The NH₂-terminal sequences of human plasminogen and the S-carboxymethyl heavy (A) and light (B) chain derivatives of plasmin. *J. Biol. Chem.*, 1972; 247: 6757–6762
- [99] Robin E.D., Murphy B.J., Theodore J.: Coordinate regulation of glycolysis by hypoxia in mammalian cells. *J. Cell Physiol.*, 1984; 118: 287–290
- [100] Ruppel A., Kennedy M.W., Kusel J.R.: Schistosomiasis immunology, epidemiology and diagnosis. *Trends Parasitol.*, 2002; 18: 50–52
- [101] Scarna H., Keller A., Pujol J.F., Legauld-Demare L., Zeitoun Y., Lamande N., Lando D., Cousin M.A.: Developmental studies with the 14.3.2. antigen and the neuron specific enolase (NSE). Associated activities. *Neurochem. Int.*, 1981; 3: 295–301
- [102] Sha J., Galindo C.L., Pancholi V., Popov V.L., Zhao Y., Houston C.W., Chopra A.K.: Differential expression of the enolase gene under *in vivo* versus *in vitro* growth conditions of *Aeromonas hydrophila*. *Mikrob. Pathog.*, 2003; 34: 195–204
- [103] Shand J.H., West D.W.: Inhibition of neutral cholesteryl ester hydrolysis by the glycolytic enzyme enolase. Is this a secondary function of enolase? *Lipids*, 1995; 30: 763–770
- [104] Sottrup-Jensen L., Claeyss H., Zajdel M., Petersen T.E., Magnusson S.: The primary structure of human plasminogen: isolation of two lysine-binding fragments and one “mini” plasminogen (MW, 38000) by elastase-catalyzed-specific limited proteolysis. *Prog. Chem. Fibrinolysis Thrombolysis*, 1978; 3: 191–209

- [105] Sousa L.P., Silva B.M., Brasil B.S., Nogueira S.V., Ferreira P.C., Kroon E.G., Kato K., Bonjardim C.A.: Plasminogen/plasmin regulates alpha-enolase expression through the MEK/ERK pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 337: 1065–1071
- [106] Stanley R., Ngaiza J.R., Wambay E., Lewis J., Doenhoff M.J.: Platelets as an innate defence mechanism against *Schistosoma mansoni* infections in mice. *Parasite Immunology*, 2003; 25: 467–473
- [107] Subramanian A., Miller D.M.: Structural analysis of alpha-enolase. Mapping the functional domains involved in down-regulation of the *c-myc* protooncogene. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 5958–5965
- [108] Suelves M., Lopez-Alemayn R., Lluís F., Aniorte G., Serrano E., Parra M., Carmeliet P., Muñoz-Canoves P.: Plasmin activity is required for myogenesis *in vitro* and skeletal muscle regeneration *in vivo*. *Blood*, 2002; 99: 2835–2844
- [109] Suelves M., Vidal B., Ruiz V., Baeza-Raja B., Diaz-Ramos A., Cuartas I., Lluís F., Parra M., Jardi M., Lopez-Alemayn R., Serrano A.L., Muñoz-Canoves R.: The plasminogen activation system in skeletal muscle regeneration: antagonistic roles of urokinase-type plasminogen activator (uPA) and its inhibitor (PAI-1). *Front. Biosci.*, 2005; 10: 2978–2985
- [110] Sullivan D.T., MacIntyre R., Fuda N., Fiori J., Barrilla J., Ramizel L.: Analysis of glycolytic enzyme co-localisation in *Drosophila* flight muscle. *J. Exp. Biol.*, 2003; 206: 2031–2038
- [111] Sundstrom P., Jensen J., Balish E.: Humoral and cellular immune responses to enolase after alimentary tract colonization or intravenous immunization with *Candida albicans*. *J. Infect. Dis.*, 1994; 170: 390–395
- [112] Terrier B., Degand N., Guilpain P., Servetaz A., Guillevin L., Mouthon L.: Alpha-enolase: a target of antibodies in infectious and autoimmune diseases. *Autoimmunity Rev.*, 2007; 6: 176–182
- [113] Vanegas G., Quinones W., Carrasco-Lopez C., Concepcion J.L., Albericio F., Avilan L.: Enolase as a plasminogen binding protein in *Leishmania mexicana*. *Parasitol. Res.*, 2007; 101: 1511–1516
- [114] Wakui H., Imai H., Komatsuda A., Miura A.B.: Circulating antibodies against alpha-enolase in patients with primary membranous nephropathy (MN). *Clin. Exp. Immunol.*, 1999; 118: 445–450
- [115] Wang H., Prorok M., Bretthauer R.K., Castellino F.J.: Serine-578 is a major phosphorylation *locus* in human plasma plasminogen. *Biochemistry*, 1997; 36: 8100–8106
- [116] Webster K.A., Gunning P., Hardeman E., Wallace D.C., Kedes L.: Coordinate reciprocal trends in glycolytic and mitochondrial transcript accumulations during the *in vitro* differentiation of human myoblasts. *J. Cell. Physiol.*, 1992 142: 556–573
- [117] Wender M., Filipek-Wender H., Stanisławska J.: Cholesteryl esters of the brain in demyelinating diseases. *Clin. Chim. Acta*, 1974; 54: 269–275
- [118] Werb Z.: ECM and cell surface proteolysis: regulating cellular ecology. *Cell*, 1997; 91: 439–442
- [119] Whiting G.C., Evans J.T., Patel S., Gillespie S.H.: Purification of native α -enolase from *Streptococcus pneumoniae* that binds plasminogen and is immunogenic. *J. Med. Microbiol.*, 2002; 51: 837–843
- [120] Williams L.A., Ding L., Horwitz J., Piatigorsky J.: tau-Crystallin from the turtle lens: purification and partial characterization. *Exp. Eye Res.*, 1985; 40: 741–749
- [121] Wistow G.J., Lietman T., Williams L.A., Stapel S.O., de Jong W.W., Horwitz J., Piatigorsky J.: tau-Crystallin/alpha-enolase: one gene encodes both an enzyme and a lens structural protein. *J. Cell. Biol.*, 1988; 107: 2729–2736
- [122] Wistow G.J., Piatigorski J.: Recruitment of enzymes as lens structural proteins. *Science*, 1987; 236: 1554–1556
- [123] Witkowska D.: Mimikra cząsteczkowa jako czynnik patogenności bakterii. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 1999; 4: 545–559
- [124] Witkowska D., Pietkiewicz J., Szostko B., Danielewicz R., Masłowski L., Gamian A.: Antibodies against human muscle enolase recognize a 45-kDa bacterial cell wall outer membrane enolase-like protein. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.*, 2005; 45: 53–62
- [125] Yother J., White J.M.: Novel surface attachment mechanism of the *Streptococcus pneumoniae* protein PspA. *J. Bacteriol.*, 1994; 176: 2976–2985
- [126] Zajicek J., Chang Y., Castellino F.J.: The effects of ligand binding on the backbone dynamics of kringle 1 domain of human plasminogen. *J. Biol. Mol.*, 2000; 301: 333–347
- [127] Zhang J.R., Tuomanen E.: Molecular and cellular mechanisms for microbial entry into the CNS. *J. Neurovirol.*, 1999; 5: 591–603
- [128] Zhang L., Cilley R.E., Chinoy M.R.: Suppression subtractive hybridization to identify gene expressions in variant and classic small cell lung cancer cell lines. *J. Surg. Res.*, 2000; 93: 108–119