

Received: 2008.06.20
Accepted: 2008.10.21
Published: 2008.11.07

Znaczenie Gc-globuliny w praktyce klinicznej

The significance of Gc-globulin in clinical practice

**Marta Łukaszewicz-Zajac¹, Barbara Mroczko¹, Alina Kułakowska²,
Maciej Szmitkowski¹**

¹ Zakład Diagnostyki Biochemicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

² Klinika Neurologii Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku

Streszczenie

Gc-globulina jest glikoproteina o masie cząsteczkowej 51–58 kDa, która charakteryzuje się wielokierunkowym działaniem. Jest nazywana także białkiem wiążącym witaminę D (DBP). Główną funkcją Gc-globuliny jest wiązanie witaminy D oraz aktyny, uwalnianej z uszkodzonych komórek i tkanek do krążenia. Badania wykazały ważne znaczenie kliniczne tego białka. Stwierdzono, że obniżone stężenie Gc-globuliny może być niekorzystnym czynnikiem prognostycznym przeżycia pacjentów z ostrą niewydolnością wątroby, po przedawkowaniu acetaminofenu (paracetamolu), ze znacznym uszkodzeniem tkanek i zespołem niewydolności wielonarządowej (MODS) oraz sepsą. Wiele badań sugeruje zależność między polimorficznymi odmianami tego białka a zachorowalnością na przewlekłą obturacyjną chorobę płuc (COPD), choroby tarczycy, cukrzycę, stwardnienie rozsiane czy sarkoidozę.

Słowa kluczowe:

Gc-globulina • DBP • uszkodzenie tkanek • sepsa • ostra niewydolność wątroby

Summary

Gc-globulin is a multifunctional glycoprotein with a molecular mass of 51–58 kDa. It is also called vitamin D-binding protein (DBP). The main function of Gc-globulin is to bind vitamin D and actin, which is released into the extracellular environment upon cell and tissue lysis. Gc-globulin appears to have important clinical significance. Some investigation have shown that a low concentration of Gc-globulin may be used as a prognostic factor in patients with fulminant hepatic failure, acetaminophen (paracetamol) overdose, multiple trauma or multiple organ dysfunction syndrome (MODS), or sepsis. Many studies suggest an association between Gc-globulin phenotypes and resistance or susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease (COPD), thyroid diseases, diabetes, multiple sclerosis, and sarcoidosis.

Key words:

Gc-globulin • DBP • tissue injury • sepsis • acute liver failure

Full-text PDF:

<http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=871526>

Word count:

2987

Tables:

1

Figures:

1

References:

42

Adres autorki:

mgr Marta Łukaszewicz-Zajac, Zakład Diagnostyki Biochemicznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku, ul. J. Waszyngtona 15 a, 15-269 Białystok; e-mail: martha_21@interia.pl

CHARAKTERYSTYKA OGÓLNA

Nazewnictwo dotyczące Gc-globuliny (Gc-globulin, group-specific component globulin) zmieniało się wraz z odkrywaniem różnorodnych funkcji tego białka. Po raz pierwszy termin Gc-globulina wprowadził Hirschfield w 1959 r., który wyizolował to białko z frakcji α 2-globulin [35]. Późniejsze odkrycie właściwości wiążących i transportujących witaminę D sprawiły, że zaczęto używać określenia – białko wiążące witaminę D (vitamin D binding protein – DBP) [9]. Pochodną Gc-globuliny jest czynnik aktywujący makrofagi (Gc-MAF lub DBP-MAF, macrophage-activating factor) [39].

Gc-globulina jest monomeryczną glikoproteiną o masie cząsteczkowej 51–58 kDa, która charakteryzuje się wielokierunkowym działaniem [38]. Ludzka cząsteczka Gc-globuliny jest zbudowana z 458 aminokwasów i powstaje po odszczerpieniu sygnału peptydowego (16 aminokwasów), wykazując znaczną homologię do albuminy czy α -fetoproteiny (AFP – alpha fetoprotein) [38]. Dlatego Gc-globulina, podobnie jak α -albumina, α -fetoproteina oraz afamina należy do nadrodziny białek wiążących, strukturalnie związanych z albuminą [38]. Białka te zawierają unikatową resztę cysteinową i tworzą charakterystyczną strukturę trzech domen. Pierwsza (I) i druga (II) domena Gc-globuliny składa się ze 186 aminokwasów, natomiast III domena jest znacznie krótsza i tworzy 86 reszt karboksylowych [13]. Stwierdzono, że region wiążący witaminę D jest umiejscowiony w obrębie domeny I, natomiast region wiążący aktynę w obrębie domeny II i III [13]. Nie wykazano znaczącej interakcji między miejscem wiążącym aktynę a stopniem związania Gc-globuliny z witaminą D [13], ponieważ tylko 5% całkowitego stężenia Gc-globuliny w osoczu jest związane z witaminą D [38]. Pozostała, wolna część tego białka jest pozostawiona do spełniania istotnej funkcji, czyli wiązania aktyny [38] uwalnianej do krążenia z uszkodzonych komórek.

Gen kodujący Gc-globulinę znajduje się na chromosomie 4 (4q11-q13), a jego ekspresję wykazano w wielu tkankach i różnych płynach ustrojowych [22,38]. Białko to jest wytwarzane głównie przez komórki mięszkowe wątroby [10].

Stwierdzono ekspresję mRNA Gc-globuliny w nerkach, płucach, sercu, mózgu, śledzionie czy jądrach [4].

Duże stężenia białka wiążącego witaminę D stwierdzono nie tylko w osoczu, ale także w mleku matki, płynie nasiennym, płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w ślinie [38]. Wykazano, że stężenie Gc-globuliny w osoczu jest stałe już od chwili urodzenia i nie zależy od wieku, ale jest wyższe u kobiet niż u mężczyzn. Stężenie Gc-globuliny w surowicy osoby zdrowej wynosi 176–623 mg/l [16]. Stężenie tego białka może być oznaczane we krwi jako tzw. całkowita Gc-globulina (związana oraz niezwiązana z aktyną) lub jako wolna frakcja, niezwiązana z aktyną (actin-free) [22].

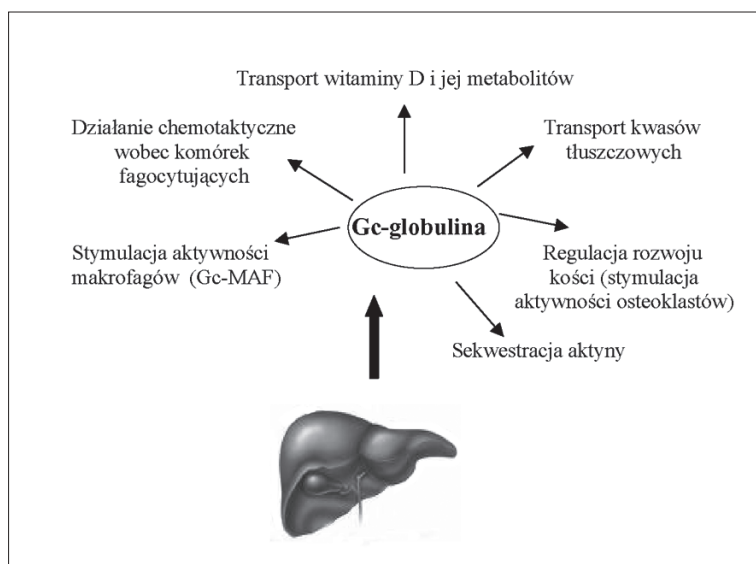
Wykazano, że Gc-globulina może także występować na powierzchni różnych komórek, do których należą: neutrofile, fibroblasty, monocyty, limfocyty T i B, komórki mięśni gładkich czy komórki cytotrofoblastu, które jednak nie są zdolne do wytwarzania tego białka [10].

POLIMORFIZM Gc-GLOBULIN

Zidentyfikowano trzy główne odmiany Gc-globuliny, różniące się szybkością wędrówki w polu elektrycznym oraz sekwencją aminokwasową: Gc1s (s – wolno wędruje w czasie elektroforezy), Gc1f (f – szybko wędruje w czasie elektroforezy) oraz Gc2 [11,35,38]. Dodatkowo w obrębie tych trzech izoform stwierdzono ponad 120 różnych odmian genetycznych Gc-globuliny [22]. Gc2 jest najczęściej stwierdzana u ludzi rasy białej, w przeciwieństwie do rasy czarnej, u których głównie stwierdza się typ Gc1f białka wiążącego witaminę D. Określono także główne warianty fenotypowe Gc-globuliny, czyli Gc1-1, Gc1-2 oraz Gc2-2. Odmianą Gc-globuliny, która występuje w największym stężeniu w osoczu, jest Gc1s-1s, Gc1s-1f i Gc1f-1f). Mniejsze stężenia wykazano dla Gc1-2 (Gc1s-2 i Gc1f-2), natomiast najmniejsze dla Gc2-2 [18].

AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNA

Gc-globulina jest białkiem o bardzo szerokim zakresie działania. Główną funkcją jest wiązanie i transport witaminy D



Ryc. 1. Fizjologiczna funkcja Gc-globuliny

oraz jej metabolitów. Ponadto DBP bierze udział w przenoszeniu kwasów tłuszczowych i endotoksyn. Zarówno Gc-globulina, jak i gelsolina, należą do istotnych białek wiążących aktyne, uwalnianą z uszkodzonych komórek i tkanek do krążenia. Stymuluje również aktywność osteoklastów i resorpcję kości. Pochodną Gc-globuliny pozbawioną galaktozy i kwasu sjałowego jest DBP-MAF (Gc-MAF). Czynnikiem ten jest zdolny do aktywacji makrofagów i działania chemotaktycznego względem leukocytów, regulując reakcje immunologiczne i zapalne (ryc. 1) [11,22,38].

Gc-globulina jako białko wiążące witaminę D

Główną funkcją Gc-globuliny jest wiązanie i transport witaminy D. Witamina ta odgrywa główną rolę w przemianach wapnia i fosforu oraz jest niezbędna do rozwoju, a także utrzymania właściwego metabolizmu kości. Jej główną pochodną jest 25(OH)₂D₃ (kalcydiol) o najwyższym stężeniu w surowicy, natomiast najbardziej aktywnym metabolitem witaminy D jest 1,25(OH)₂D₃ (kalcytriol) [38]. Stężenie Gc-globuliny w osoczu krwi krążącej jest 20-krotnie większe niż pochodnych witaminy D, co może być tłumaczone wielokierunkowym działaniem tego białka, znacznie wykraczającym poza jego właściwości transportowe [38].

Wiązanie witaminy D przez Gc-globulinę jest możliwe dzięki obecności miejsc wiążących tę witaminę, umiejscowionych w obrębie N-końcowego regionu domeny I [36]. Wiązanie metabolitów witaminy D z receptorami odbywa się na powierzchni komórek docelowych, wywołując odpowiedź biologiczną [22,36]. Gc-globulina wiąże witaminę D i jej pochodne z różnym powinowactwem [36]. Około 88% 25(OH)₂D₃ wiąże z dużym powinowactwem, 85% 1,25(OH)₂D₃ z siłą 10 razy mniejszą od 25(OH)₂D₃. Pozostałe 0,4% stanowi wolna frakcja witaminy D oraz część związana z innymi białkami surowicy [22,36,38]. Wykazano, że w rzeczywistości tylko 1–2% miejsc wiążących w obrębie Gc-globuliny jest zajętych przez metabolity witaminy D, wskazując tym samym, że funkcja tego białka znacznie wykracza poza sam transport tej witaminy [11].

Gc-globulina jako białko wiążące aktyne

Aktyna jest białkiem, które wchodzi w skład cytoszkieletu komórki, biorąc udział w utrzymaniu jej właściwego kształtu [22]. Podczas rozerwania błony komórkowej dochodzi do uszkodzenia komórek i uwalniania tych wewnątrzkomórkowych białek do przestrzeni pozakomórkowej [22]. Monomeryczna postać aktyny (G-aktyna) w sprzyjającym środowisku wewnątrznaczyniowym oraz w obecności czynnika krzepnięcia Va, ma tendencję do polimeryzacji i formowania długich filamentów (F-aktyna) [22,38], co może prowadzić do rozsianej koagulacji wewnątrznaczyniowej [22]. W skład systemu oczyszczającego krążenie z aktyny (extracellular actin scavenger system – EASS) wchodzi nie tylko Gc-globulina, ale także gelsolina [8]. Aktyna jest depolimeryzowana przez gelsolinę, a następnie wiązana przez Gc-globulinę, a powstałe kompleksy: G-aktyna-gelsolina, G-aktyna-Gc-globulina, są usuwane z krążenia przez układ fagocytów jednojądrzastych ze znacznie większą wydolnością niż wolna cząsteczka Gc-globuliny [6]. Gelsolina jest zdolna do związania zarówno G-aktyny jak i F-aktyny, a jej głównym zadaniem jest rozcinanie filamentów akty-

ny. Natomiast Gc-globulina wiąże jedynie G-aktynę i stabilizuje ją w postaci monomerycznej [11,37].

Filamenty aktyny o długości 1–5 μm mają zdolność do blokowania i uszkodzania mikronaczyń [38] oraz do formowania skrzepów przez interakcje między F-aktyną a fibryną, co może prowadzić do uruchamiania rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego. Dodatkowo F-aktyna może być krzyżowo wiązana z fibryną w obecności XIII czynnika krzepnięcia oraz jonów wapnia. Zatem Gc-globulina przeciwdziała formowaniu się skrzepów przez usuwanie aktyny z krążenia krwi [11].

Małe stężenie Gc-globuliny, zarówno całkowitej, jak i Gc-globuliny niezwiązanej z aktyną (actin-free Gc-globulin), stanowi wskaźnik pozostałej zdolności Gc-globuliny do oczyszczania krążenia krwi z aktyny. Białko to może być czynnikiem prognostycznym w stanach przebiegających z uszkodzeniem narządów, czyli ostrej niewydolności wątroby (acute liver failure – ALF) [29,32], przedawkowaniu paracetamolu [31], zespole niewydolności wielonarządowej [8] czy sepsy [7].

Gc-globulina jako czynnik chemotaktyczny komórek fagocytujących

Gc-globulina wpływa na układ immunologiczny poprzez zwiększanie aktywności chemotaktycznej składników C5a dopełniacza oraz jej pochodnej pozbawionej Arg (C5a des Arg) wobec neutrofilów, monocytów czy fibroblastów [10,38]. Funkcje neutrofilów są kontrolowane przez różne czynniki, tj. cytokiny, czynniki aktywujące płytki krwi (platelet-activating factor – PAF), wśród których składowa C5a dopełniacza jest jednym z najsilniejszych mediatorów reakcji zapalnej [2,11]. Działa ona na komórki docelowe, wywołując różnorodne efekty, wśród których można wymienić nie tylko chemotaksję i degranulację komórek zapalnych, ale także wybuch tlenowy, zmiany adhezji komórkowej czy wzrost przepuszczalności naczyń krwionośnych [2,10]. Odpowiedź określonej komórki jest podyktowana obecnością danej grupy mediatorów w jej najbliższym sąsiedztwie, a niewielkie stężenie jednego mediatora może promować działanie innego. Stąd też w pewnych warunkach Gc-globulina może pobudzać aktywność chemotaktyczną składowej C5a dopełniacza [2]. Po osiągnięciu maksymalnej aktywności chemotaktycznej (2–3 godziny) dochodzi do degradacji Gc-globuliny przez aktywne neutrofile. Wskazuje to, że warunkiem pobudzenia aktywności chemotaktycznej Gc-globuliny jest przedłużające się wiązanie jej z neutrofilami [22]. Przypuszcza się, że wyczerpanie się Gc-globuliny w surowicy może powodować zahamowanie wzrostu aktywności chemotaktycznych składowej C5a dopełniacza [22].

Gc-globulina jako czynnik aktywujący makrofagi (Gc-MAF lub DBP-MAF)

Gc-globulina może ulegać przekształceniu do czynnika stymulującego aktywność makrofagów (Gc-MAF lub DBP-MAF) [11,22]. β-galaktozydaza, obecna na powierzchni limfocytów B, powoduje powstanie postaci prekursorowej czynnika aktywującego makrofagi, a następnie pod wpływem sialidazy obecnej na limfocytach T, prekursor ten jest przekształcany w Gc-MAF [24,39]. Podczas pro-

cesu zapalnego może dochodzić do szybkiego powstania Gc-MAF, a następnie do nagłej aktywacji makrofagów w czasie odpowiedzi obronnej gospodarza na infekcje czy choroby o podłożu zapalnym [11]. Prowadzi to do nasilenia fagocytozy, chemotaksji, lizy wewnątrzkomórkowych parazytów czy niszczenia komórek nowotworowych przez aktywowane makrofagi [38]. Badania Gumireddy i wsp. [12] wykazały, że Gc-MAF może pełnić dodatkową rolę w kontrolowaniu aktywności makrofagów w procesie zapalnym przez indukowanie apoptozy makrofagów w sytuacji, kiedy ich obecność jest już niepotrzebna [12].

Gc-MAF jako czynnik aktywujący osteoklasty

Gc-MAF jest białkiem stymulującym aktywność osteoklastów i resorpcję kości [11]. Schemat aktywacji osteoklastów przez Gc-MAF może być związany z działaniem komórkowej pętli zwrotnej, która polega na obniżaniu aktywności osteoklastów przy wzroście poziomu wapnia zewnątrzkomórkowego [1]. Badania Adebajoy i wsp. [1] wykazały, że Gc-MAF jest zdolny do hamowania działania pętli zwrotnej przez utrzymanie aktywności osteoklastów na danym poziomie zewnątrzkomórkowego wapnia [1]. Niedobór Gc-globuliny może zatem prowadzić do upośledzonej funkcji osteoklastów, a w konsekwencji do rozwoju osteopetrozy [1].

Niedawne badania przeprowadzone na modelu zwierzęcym wykazały, że białko to jest zdolne także do formowania kości. Zatem Gc-globulina reguluje zarówno proces tworzenia, jak i przebudowy kości [33].

ZNACZENIE KLINICZNE Gc-GLOBULINY

Uszkodzenie tkanek i narządów a stężenie Gc-globuliny

Wykazano, że Gc-globulina odgrywa znaczącą rolę w patofizjologii uszkodzeń tkanek i narządów. Zmiana stężenia Gc-globuliny po rozległych urazach jest wynikiem wiązania aktywności uwalnianej z uszkodzonych komórek i tkanek lub też stymulowania komórek wątrobowych do syntezy Gc-globuliny przez mediatory reakcji zapalnej, do których także możemy zaliczyć samą Gc-globulinę [8].

Badania Dahla i wsp. [5] wykazały znacząco mniejsze stężenia zarówno całkowitej, jak i wolnej Gc-globuliny u pacjentów z rozległymi urazami w porównaniu z osobami zdrowymi [5,8]. Stężenie Gc-globuliny oznaczano codziennie przez okres jednego tygodnia, dzięki czemu wykazano, że znaczące obniżenie tego białka wystąpiło już 60 min po urazie. Świadczy to o największym zużyciu Gc-globuliny bezpośrednio po uszkodzeniu tkanek [5,8]. Badania sugerują znaczenie kliniczne tego białka w zespole ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (systemic inflammatory reaction syndrome – SIRS), który bardzo często pojawia się jako następstwo sepsy lub uszkodzenia tkanek [5,19]. Małe stężenie Gc-globuliny w surowicy pacjentów po rozległych urazach może być niekorzystnym czynnikiem prognostycznym, wskazującym na wysokie ryzyko zgonu pacjentów [8].

Znaczenie Gc-globuliny w zespole niewydolności wielonarządowej oraz sepsie

Gc-globulina jest białkiem wiążącym endotoksyny, a także może brać udział w procesie oczyszczania krwi z in-

duktorów reakcji zapalnej w sepsie [22]. Sugeruje się, że niedobór Gc-globuliny może prowadzić do rozwoju sepsy [22].

Wykazano, że obniżone stężenie Gc-globuliny jest związane ze skróconym czasem przeżycia chorych oraz wskazuje na większe ryzyko wystąpienia zespołu niewydolności wielonarządowej (multiple organ dysfunction syndrome – MODS) u pacjentów z sepsą [5,7]. Dahl i wsp. [7] stwierdzili, że stężenie tego białka w osoczu pacjentów z MODS wynosiło 127 mg/l i było mniejsze w porównaniu z pacjentami bez zespołu niewydolności wielonarządowej (184 mg/l). Ponadto szybkie obniżanie się stężenia Gc-globuliny było związane z rozwojem rozlanego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, natomiast małe stężenie tego białka, utrzymujące się przez dłuższy czas, korelowało z wystąpieniem u tych pacjentów zespołu ostrej niewydolności oddechowej (acute respiratory distress syndrome – ARDS) i sepsy [7].

Zwiększone uwalnianie aktywności z uszkodzonych tkanek i narządów oraz bardzo małe stężenia Gc-globuliny i gelsoliny, zużywanych do jej wiązania, może prowadzić do rozwoju nie tylko sepsy i zespołu niewydolności wielonarządowej, ale także do zaburzeń oddychania oraz trombotopenii [7].

Gc-globulina jako czynnik prognostyczny w ostrej niewydolności wątroby

Obniżone stężenie Gc-globuliny odgrywa istotną rolę w patofizjologii ostrej niewydolności wątroby (acute liver failure – ALF), zarówno indukowanej, jak i nieindukowanej acetaminofenem (paracetamolem), która charakteryzuje się intensywnym uszkodzeniem hepatocytów [15]. Całkowita Gc-globulina występuje w surowicy jako tzw. Gc-globulina związana (actin-bound) i niezwiązana z aktywnością (actin-free). Obie postaci tego białka mogą być czynnikami prognostycznymi przeżycia pacjentów z ostrą niewydolnością wątroby [29,32] oraz chorych po przedawkowaniu acetaminofenu [31].

Schiodt i wsp. [32] wykazali obniżone stężenie Gc-globuliny u pacjentów z ostrą niewydolnością wątroby, zarówno indukowaną, jak i nieindukowaną acetaminofenem (paracetamolem). Stwierdzono, że korzystniejsze rokowanie dotyczyło pacjentów z ALF indukowaną acetaminofenem, przy czym stężenia Gc-globuliny u tych chorych były wyższe w porównaniu z pacjentami z ALF nieindukowaną acetaminofenem [31,32]. Stwierdzono ponadto, że pacjenci zmarli zaraz po transplantacji mieli znacznie niższe stężenia Gc-globuliny związanej z aktywnością w porównaniu do chorych żyjących. Wykazano, że stężenie Gc-globuliny poniżej 80 mg/l może być czynnikiem prognostycznym w ostrej niewydolności wątroby, nieindukowanej acetaminofenem [32]. W kolejnych badaniach dowiedziono także, iż wolna Gc-globulina może być czynnikiem prognostycznym w ostrej niewydolności wątroby [29]. Wykazano, że stężenie wolnej Gc-globuliny, przy wartości cut-off poniżej 40 mg/l, było niekorzystnym czynnikiem rokowniczym u chorych z ostrą niewydolnością wątroby [29].

Oznaczanie stężenia Gc-globuliny może mieć znaczenie prognostyczne także w przypadku chorych po przedawkowaniu

acetaminofenu [31]. Badania Schiodta i wsp. [31] wykazały znacząco mniejsze stężenia całkowitej Gc-globuliny u pacjentów po przedawkowaniu acetaminofenu z hepatotoksycznym uszkodzeniem wątroby, a najniższe stężenia tego białka pojawiały się już po 60–72 godzinach od przedawkowania. Natomiast stężenie całkowitej Gc-globuliny poniżej 120 mg/l w drugim dniu obserwacji było czynnikiem prognozującym wystąpienie encefalopatii wątrobowej u 75% pacjentów z uszkodzeniem wątroby, a u 91% chorych, u których stężenie tego białka było powyżej wartości cut-off, encefalopatia wątrobowej nie wystąpiła [31]. Sugeruje się, że stężenie Gc-globuliny związanej z aktywną utrzymuje się na stałym poziomie i nie zależy od całkowitego stężenia tego białka. Proces usuwania Gc-globuliny związanej z aktywną jest w znacznym stopniu regulowany, pozostając na stałym, określonym poziomie, nawet w trakcie wystąpienia stanów przebiegających ze wzrostem uwalniania aktywny [31].

Znaczenie Gc-globuliny w procesie nowotworowym

Gc-globulina jest prekursorem głównego czynnika aktywującego makrofagi (Gc-MAF). Badania Yamamoto i wsp. [42] wykazały, że aktywność Gc-MAF w surowicy pacjentów z chorobą nowotworową była znacznie obniżona w porównaniu z osobami zdrowymi [40,41,42]. Przyczyną takiego zjawiska jest deglikozylacja Gc-globuliny przez N-acetylogalaktozaminidazę obecną w surowicy, a uwalnianą z komórek nowotworowych. Deglikozylowana Gc-globulina nie może być przekształcona do Gc-MAF, co prowadzi do inaktywacji makrofagów i zjawiska immunosupresji u pacjentów z chorobą nowotworową. Dodatkowo badania Yamamoto i wsp. [40] dowiodły, że chorzy z niewielką aktywnością Gc-globuliny wykazywali jednocześnie wysoki poziom N-acetylogalaktozaminidazy. Wskazywało to na odwrotnie proporcjonalną zależność między aktywnością Gc-globuliny a poziomem N-acetylogalaktozaminidazy w surowicy pacjentów z chorobą nowotworową, m.in. z płaskonabłonkowym rakiem jamy ustnej [40]. Podobne wnioski przedstawiono w przypadku nowotworów o innym umiejscowieniu, np. raka piersi [42] oraz raka jelita grubego [41], gdzie dodatkowo w terapii zastosowano Gc-MAF. Stwierdzono, że w warunkach *in vitro* makrofagi pod wpływem Gc-MAF są zdolne do niszczenia komórek guza. Podawanie Gc-MAF pacjentom z nowotworem powodowało wzrost aktywności makrofagów, a następnie wiązanie i niszczenie komórek nowotworowych [41,42].

Badania Kiskera i wsp. [17] wykazały, że Gc-MAF może hamować wzrost ludzkich komórek linii raka trzustki u myszy, przeciwdziałając procesowi angiogenezy oraz proliferacji komórek śródbłonka. Dodatkowo Gc-MAF stymuluje makrofagi do niszczenia zarówno komórek śródbłonka, jak i komórek nowotworowych [17]. Stwierdzono, że systematyczna, dzienna substytucja Gc-MAF hamowała wzrost komórek raka trzustki u myszy, a w dużych dawkach powodowała nawet regresję guza, co może wskazywać na możliwość zastosowania Gc-MAF w terapii chorób nowotworowych w przyszłości [17].

Przewlekła obturacyjna choroba płuc (COPD)

Gc-globulina jest białkiem polimorficznym, które ma trzy główne odmiany fenotypowe: Gc1f, Gc1s oraz Gc2, różniące się szybkością wędrówki w czasie elektrofore-

zy oraz składem aminokwasowym [34]. Badania sugerują, że przewlekła obturacyjna choroba płuc (chronic obstructive pulmonary disease – COPD) może mieć podłoże genetyczne, związane z polimorfizmem Gc-globuliny [28]. Wykazano, że uszkodzenie mięszu płuc może być związane ze zdolnością Gc-globuliny do przekształcania w Gc-MAF, która stymuluje aktywność makrofagów. Stwierdzono, że głównie odmiana Gc1f i Gc1s oraz 10% Gc2 przekształca się w Gc-MAF, zatem duże stężenie Gc1f zwiększa ryzyko COPD, a przewaga odmiany Gc2 może obniżać aktywność makrofagów w płucach i chronić przed COPD [28].

Cukrzyca typu 2

Badania wykazały zależność między *locus* genu kodującego Gc-globulinę (chromosom 4q12) a metabolizmem glukozy w przypadku niektórych grup etnicznych [14]. Stwierdzono, że warianty aminokwasowe Gc-globuliny, przez wpływ na ilość aktywnej witaminy D w komórkach beta, regulują sekrecję insuliny [14,20]. Wykazano, że występowanie niektórych odmian genotypowych Gc-globuliny może wpływać na pojawienie się insulinooporności, a nawet prowadzić do rozwoju cukrzycy typu 2 [14].

Dane literaturowe wskazują na możliwość występowania kilku różnych mechanizmów, tłumaczących wpływ poszczególnych wariantów tego białka na rozwój cukrzycy typu 2. Metabolity witaminy D są wiązane przez Gc-globulinę z różnym powinowactwem, w zależności od genotypu tego białka, co może wpływać na wydzielanie insuliny w warunkach fizjologicznych. Gc-globulina ulega także przekształceniu w czynnik aktywujący makrofagi (Gc-MAF), modulując tym samym działanie układu immunologicznego. Wskazuje to, iż odmiany fenotypowe Gc-globuliny, przez modulowanie reakcji immunologicznych, mogą zmieniać wrażliwość komórek na insulinę [14]. Kolejnym mechanizmem, który może tłumaczyć wpływ tego białka na poziom insuliny, jest obecność innego genu w bezpośrednim sąsiedztwie *locus* genu kodującego Gc-globulinę, który reguluje wrażliwość komórek na insulinę [14].

Malecki i wsp. [21] przeprowadzili badania na populacji Polaków, nie wykazując bezpośredniej zależności między polimorfizmem Gc-globuliny a rozwojem cukrzycy typu 2 [21]. Znaczenie Gc-globuliny w rozwoju cukrzycy typu 2 nie jest do końca wyjaśnione i wymaga dalszych badań.

Inne jednostki chorobowe

Wykazano, że stężenie Gc-globuliny w surowicy kobiet zależy od profilu estrogenów, a podwyższone stężenie tego białka stwierdzono w czasie ciąży i terapii estrogenowej [27,34]. W badaniach Borkowskiego i wsp. [3] oznaczano stężenie Gc-globuliny w surowicy i w płynie otrzewnowym kobiet z endometriozą, w przebiegu której obserwuje się zmiany w odpowiedzi immunologicznej. Badania wykazały, że u kobiet z endometriozą obserwowano wyższe stężenia tego białka w surowicy i niższe w płynie otrzewnowym w porównaniu do osób zdrowych, ale różnice te nie były istotnie statystycznie [3]. Sugeruje się, że stężenie Gc-globuliny w surowicy i płynie otrzewnowym kobiet z endometriozą może zależeć od genotypu tego białka, co

Tabela 1. Znaczenie kliniczne Gc-globuliny

Jednostka chorobowa	Rola Gc-globuliny	Znaczenie kliniczne	Piśmiennictwo
Ostra niewydolność wątroby	wiązanie aktywności uwalnianej z uszkodzonych hepatocytów	obniżone stężenie Gc-globuliny (<80 mg/l) jako niekorzystny czynnik prognostyczny przeżycia pacjentów z ostrą niewydolnością wątroby nieindukowaną acetaminofenem	[32]
Ostra niewydolność wątroby indukowana acetaminofenem	wiązanie aktywności uwalnianej z uszkodzonych przez acetaminofen hepatocytów	obniżone stężenie Gc-globuliny (<120 mg/l) jako niekorzystny czynnik prognostyczny po przedawkowaniu acetaminofenem, wskazujący na wysokie ryzyko wystąpienia encefalopatii wątrobowej	[31]
Nowotwory: • rak jamy ustnej • rak piersi • rak jelita grubego	aktywacja makrofagów (GcMAF)	obniżona aktywność Gc-MAF w surowicy pacjentów prowadzi do inaktywacji makrofagów i zjawiska immunosupresji u pacjentów z chorobą nowotworową	[40,41,42]
Przewlekła obturacyjna choroba płuc (COPD), cukrzyca typu 2, choroby tarczycy	udział w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej i reakcji zapalnej	obecność niektórych odmian polimorficznych Gc-globuliny wpływa na ryzyko występowania ww. chorób	[14,26,28]
Sepsa	wiązanie endotoksyn	obniżone stężenie Gc-globuliny (<134 mg/l) jako niekorzystny czynnik prognostyczny, wskazujący na wysokie ryzyko rozwoju zespołu niewydolności wielonarządowej (MODS) w czasie sepsy	[7]
Uszkodzenie tkanek i narządów	wiązanie aktywności uwalnianej z uszkodzonych komórek	obniżone stężenie Gc-globuliny (<200 mg/l) jako niekorzystny czynnik prognostyczny, wskazujący na wysokie ryzyko zgonu pacjentów	[30]

mogłyby wpływać na różną aktywność makrofagów modulujących odpowiedź immunologiczną [3].

Gc-globulina ma również udział w patogenezie autoimmunologicznych chorób tarczycy [26]. Badania Paniego i wsp. [26] wykazały, że występowanie niektórych odmian genotypowych tej globuliny może predysponować do pojawienia się chorób autoimmunologicznych tarczycy, co zostało udowodnione w przypadku choroby Gravesa-Basedowa [26].

Znaczenie genotypowych odmian Gc-globuliny próbowano wykazać także w przypadku rozwoju stwardnienia rozsianego [25] i sarkoidozy [23], jednak jej udział w patogenezie tych chorób nie został potwierdzony.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adebajo O.A., Moonga B.S., Haddad J.G., Huang C.L., Zaidi M.: A possible new role for vitamin D-binding protein in osteoclast control: inhibition of extracellular Ca^{2+} sensing at low physiological concentrations. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 249: 668–671
- [2] Binder R., Kress A., Kan G., Herrmann K., Kirschfink M.: Neutrophil priming by cytokines and vitamin D binding protein (Gc-globulin): impact on C5a-mediated chemotaxis, degranulation and respiratory burst. *Mol. Immunol.*, 1999; 36: 885–892
- [3] Borkowski J., Gmyrek G.B., Madej J.P., Nowacki W., Goluda M., Gabryś M., Stefaniak T., Chełmońska-Soyta A.: Serum and peritoneal evaluation of vitamin D-binding protein in women with endometriosis. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 103–109
- [4] Cooke N.E., McLeod J.F., Wang X.K., Ray K.: Vitamin D binding protein: genomic structure, functional domains, and mRNA expression in tissues. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 1991; 40: 787–793
- [5] Dahl B., Schiødt F.V., Kiaer T., Ott P., Bondesen S., Tygstrup N.: Serum Gc-globulin in the early course of multiple trauma. *Crit. Care Med.*, 1998; 26: 285–289
- [6] Dahl B., Schiødt F.V., Ott P., Gvozdenovic R., Yin H.L., Lee W.M.: Plasma gelsolin is reduced in trauma patients. *Shock*, 1999; 12: 102–104
- [7] Dahl B., Schiødt F.V., Ott P., Wians F., Lee W.M., Balko J., O'Keefe G.E.: Plasma concentration of Gc-globulin is associated with organ dysfunction and sepsis after injury. *Crit. Care Med.*, 2003; 31: 152–156
- [8] Dahl B., Schiødt F.V., Rudolph S., Ott P., Kiaer T., Heslet L.: Trauma stimulates the synthesis of Gc-globulin. *Intensive Care Med.*, 2001; 27: 394–399
- [9] Daiger S.P., Schanfield M.S., Cavalli-Sforza L.L.: Group-specific component (Gc) proteins bind vitamin D and 25-hydroxyvitamin D. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1975; 72: 2076–2080
- [10] DiMartino S.J., Kew R.R.: Initial characterization of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) binding site on the neutrophil plasma membrane: evidence for a chondroitin sulfate proteoglycan. *J. Immunol.*, 1999; 163: 2135–2142
- [11] Gomme P.T., Bertolini J.: Therapeutic potential of vitamin D-binding protein. *Trends Biotechnol.*, 2004; 22: 340–345

PODSUMOWANIE

Gc-globulina jest monomeryczną glikoproteiną o masie cząsteczkowej 51–58 kDa, która charakteryzuje się wielokierunkowym działaniem. Badania sugerują, że Gc-globulina może być przydatna nie tylko w procesie diagnostycznym pacjentów z ostrą niewydolnością wątroby, po przedawkowaniu acetaminofenu (paracetamolu), zespołu niewydolności wielonarządowej czy sepsie (tab. 1), ale także ma potencjalne zastosowanie terapeutyczne. Wydaje się, że dalsze badania dotyczące roli Gc-globuliny w patofizjologii uszkodzeń tkanek i narządów są konieczne do pełnego określenia znaczenia tego białka w praktyce klinicznej.

- [12] Gumireddy K., Reddy C.D., Swamy N.: Mitogen-activated protein kinase pathway mediates DBP-maf-induced apoptosis in RAW 264.7 macrophages. *J. Cell. Biochem.*, 2003; 90: 87–96
- [13] Haddad J.G., Hu Y.Z., Kowalski M.A., Laramore C., Ray K., Robzyk P., Cooke N.E.: Identification of the sterol- and actin-binding domains of plasma vitamin D binding protein (Gc-globulin). *Biochemistry*, 1992; 31: 7174–7181
- [14] Hirai M., Suzuki S., Hinokio Y., Hirai A., Chiba M., Akai H., Suzuki C., Toyota T.: Variations in vitamin D-binding protein (group-specific component protein) levels: an inhibition ELISA assay for determination of the total concentration of Gc globulin in plasma and serum. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2004; 64: 157–166
- [15] Jalan R.: Gc-globulin to predict outcome in acute liver failure: a panacea? *Liver Transpl.*, 2005; 11: 1169–1171
- [16] Jorgensen C.S., Christiansen M., Norgaard-Pedersen B., Ostergaard E., Schiødt F.V., Laursen I., Houen G.: Gc globulin (vitamin D-binding protein) levels: an inhibition ELISA assay for determination of the total concentration of Gc globulin in plasma and serum. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2004; 64: 157–166
- [17] Kisker O., Onizuka S., Becker C.M., Fannon M., Flynn E., D'Amato R., Zetter B., Folkman J., Ray R., Swamy N., Pirie-Shepherd S.: Vitamin D binding protein-macrophage activating factor (DBP-maf) inhibits angiogenesis and tumor growth in mice. *Neoplasia*, 2003; 5: 32–40
- [18] Lauridsen A.L., Vestergaard P., Nexø E.: Mean serum concentration of vitamin D-binding protein (Gc globulin) is related to the Gc phenotype in women. *Clin. Chem.*, 2001; 47: 753–756
- [19] Lee C.C., Marill K.A., Carter W.A., Crupi R.S.: A current concept of trauma-induced multiorgan failure. *Ann. Emerg. Med.*, 2001; 38: 170–176
- [20] Malecki M., Sieradzki J.: Rola polimorfizmów w genach związanych z metabolizmem witaminy D w patogenezie cukrzycy typu 2. http://www.viamedica.pl/gazety/gazeta6/darmowy_pdf.phpml?indeks=1&indeks_art=1&VSID=90da16d (15.04.2008)
- [21] Malecki M.T., Klupa T., Wanic K., Cyganek K., Frey J., Sieradzki J.: Vitamin D binding protein gene and genetic susceptibility to type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2002; 57: 99–104
- [22] Meier U., Gressner O., Lammert F., Gressner A.M.: Gc-globulin: roles in response to injury. *Clin. Chem.*, 2006; 52: 1247–1253
- [23] Milman N., Thymann M., Graudal N., Morling N.: Plasma vitamin D-binding protein (GC) factors, immunoglobulin G heavy chain (GM) allotypes and immunoglobulin ϵ light chain (KM1) allotype in patients with sarcoidosis and in healthy control subjects. *Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.*, 2002; 19: 97–100
- [24] Mohamad S.B., Nagasawa H., Uto Y., Hori H.: Preparation of Gc protein-derived macrophage activating factor (GcMAF) and its structural characterization and biological activities. *Anticancer Res.*, 2002; 22: 4297–4300
- [25] Niino M., Kikuchi S., Fukazawa T., Yabe I., Tashiro K.: No association of vitamin D-binding protein gene polymorphisms in Japanese patients with MS. *J. Neuroimmunol.*, 2002; 127: 177–179
- [26] Pani M.A., Regulla K., Segni M., Hofmann S., Hüfner M., Pasquino A.M., Usadel K.H., Badenhop K.: A polymorphism within the vitamin D-binding protein gene is associated with Graves' disease but not with Hashimoto's thyroiditis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 87: 2564–2567
- [27] Rejnmark L., Lauridsen A.L., Brot C., Vestergaard P., Heickendorff L., Nexø E., Mosekilde L.: Vitamin D and its binding protein Gc: long-term variability in peri- and postmenopausal women with and without hormone replacement therapy. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 2006; 66: 227–238
- [28] Schellenberg D., Paré P.D., Weir T.D., Spinelli J.J., Walker B.A., Sandford A.J.: Vitamin D binding protein variants and the risk of COPD. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 1998; 157: 957–961
- [29] Schiødt F.V., Bangert K., Shakil A.O., McCashland T., Murray N., Hay J.E., Lee W.M., Acute Liver Failure Study Group: Predictive value of actin-free Gc-globulin in acute liver failure. *Liver Transpl.*, 2007; 13: 1324–1329
- [30] Schiødt F.V., Bondesen S., Petersen I., Dalhoff K., Ott P., Tygstrup N.: Admission levels of serum Gc-globulin: predictive value in fulminant hepatic failure. *Hepatology*, 1996; 23: 713–718
- [31] Schiødt F.V., Ott P., Tygstrup N., Dahl B., Bondesen S.: Temporal profile of total, bound, and free Gc-globulin after acetaminophen overdose. *Liver Transpl.*, 2001; 7: 732–738
- [32] Schiødt F.V., Rossaro L., Stravitz R.T., Shakil A.O., Chung R.T., Lee W.M., Acute Liver Failure Study Group: Gc-globulin and prognosis in acute liver failure. *Liver Transpl.*, 2005; 11: 1223–1227
- [33] Schneider G.B., Grecco K.J., Safadi F.F., Popoff S.N.: The anabolic effects of vitamin D-binding protein-macrophage activating factor (DBP-MAF) and a novel small peptide on bone. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, 2003; 13: 277–284
- [34] Speeckaert M., Huang G., Delanghe J.R., Taes Y.E.: Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin. Chim. Acta*, 2006; 372: 33–42
- [35] Svasti J., Kurosky A., Bennett A., Bowman B.H.: Molecular basis for the three major forms of human serum vitamin D binding protein (group-specific component). *Biochemistry*, 1979; 18: 1611–1617
- [36] Swamy N., Head J.F., Weitz D., Ray R.: Biochemical and preliminary crystallographic characterization of the vitamin D sterol- and actin-binding by human vitamin D-binding protein. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2002; 402: 14–23
- [37] Verboven C., Bogaerts I., Waelkens E., Rabijns A., Van Baelen H., Bouillon R., De Ranter C.: Actin-DBP: the perfect structural fit? *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.*, 2003; 59: 263–273
- [38] White P., Cooke N.: The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2000; 11: 320–327
- [39] Yamamoto N., Naraparaju V.R.: Role of vitamin D₃-binding protein in activation of mouse macrophages. *J. Immunol.*, 1996; 157: 1744–1749
- [40] Yamamoto N., Naraparaju V.R., Urade M.: Prognostic utility of serum α -N-acetylgalactosaminidase and immunosuppression resulted from deglycosylation of serum Gc protein in oral cancer patients. *Cancer Res.*, 1997; 57: 295–299
- [41] Yamamoto N., Suyama H., Nakazato H., Yamamoto N., Koga Y.: Immunotherapy of metastatic colorectal cancer with vitamin D-binding protein-derived macrophage-activating factor, GcMAF. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2008; 57: 1007–1016
- [42] Yamamoto N., Suyama H., Yamamoto N., Ushijima N.: Immunotherapy of metastatic breast cancer patients with vitamin D-binding protein-derived macrophage activating factor (GcMAF). *Int. J. Cancer*, 2008; 122: 461–467