

Received: 2007.02.23  
Accepted: 2007.04.11  
Published: 2007.05.10

## Znaczenie fukozytacji glikokoniugatów w zdrowiu i chorobie

### The role of fucosylation of glycoconjugates in health and disease

**Magdalena Orczyk-Pawitowicz**

Katedra i Zakład Chemii i Immunochemii Akademii Medycznej we Wrocławiu

#### Streszczenie

Fukoza jest jedyną deoksyheksozą u ssaków, występującą w konfiguracji L, głównie w postaci związanej w N- i O-łańcuchach oligosacharydowych glikoprotein i glikolipidów błonowych i rozpuszczalnych. Fukoza stanowi istotny element w antygenach grupowych krwi ABH oraz strukturach cukrowych typu Lewis<sup>x</sup>, Lewis<sup>y</sup>, Lewis<sup>a</sup> i Lewis<sup>b</sup>. Reszta fukozy prawie zawsze występuje jako składnik końcowy glikanów i nie ulega wbudowaniu w wewnętrzne sekwencje oligosacharydowe. Obecna w składniku cukrowym glikokoniugatów fukoza może być przyłączona różnymi wiązaniami glikozydowymi:  $\alpha$ 1,2,  $\alpha$ 1,3,  $\alpha$ 1,4 i  $\alpha$ 1,6. Predysponuje ją to do odgrywania ważnej roli w procesach rozpoznania biologicznego między komórkami oraz komórkami i macierzą zewnątrzkomórkową.

W pracy określono wpływ fukozy na właściwości i funkcje biologiczne glikoprotein. Przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat roli fukozyloglikotopów w procesach fizjologicznych, takich jak zapłodnienie, embriogeneza, rozwój płodowy, przekazywanie impulsów między neuronami, adhezja leukocytów, przekazywanie sygnałów przez receptory i apoptoza. Omówiono ich występowanie w chorobach, takich jak reumatoidalne zapalenie stawów, mukowiscydoza, choroba wrzodowa żołądka oraz procesy zapalne i nowotworowe. Omówione zmiany w ekspresji fukozy rozważane są jako potencjalny marker pomocny w diagnozowaniu i monitorowaniu niektórych procesów patologicznych.

**Słowa kluczowe:**

**fukoza • fukozyłacja • glikokoniugaty • glikotopy Lewis • fukozylotransferazy**

#### Summary

Fucose is a deoxyhexose that is present in the L-configuration of many N- and O-linked oligosaccharide structures of membrane as well as soluble glycoproteins and glycolipids produced by mammalian cells. The fucose molecule is present in ABH blood group antigens and in some oligosaccharide structures belonging to the Lewis<sup>x</sup>, Lewis<sup>y</sup>, Lewis<sup>a</sup>, and Lewis<sup>b</sup> antigens. Characteristic of fucose is its almost exclusive presence at a terminal position, i.e. not inserted in an oligosaccharide chain. Fucose can be  $\alpha$ 1,2,  $\alpha$ 1,3,  $\alpha$ 1,4, and  $\alpha$ 1,6 linked to the glycans of glycoconjugates. This predisposes fucose to play a crucial role in biological recognition events, such as cell-cell and cell-matrix interactions.

In the present review the influence of fucose on the properties and biological functions of glycoproteins is described. The state of current knowledge on the role of fucosylglycotopes, fucose-containing glycans, in many physiological processes, such as fertilization, embryogenesis, fetal development, neuron transmission, leukocytes adhesion, signal transduction, and apoptosis, as well as in diseases, such as rheumatoid arthritis, cystic fibrosis, peptic ulcer disease, inflamma-



tory process, and cancer, is summarized. Finally, some examples of changes in fucose expression and its possible determination as a marker for diseases diagnosis and monitoring are shown.

**Key words:** fucose • fucosylation • glycoconjugates • Lewis glycotopes • fucosylotransferases

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_61/10437.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_61/10437.pdf)

**Word count:** 4273

**Tables:** 2

**Figures:** 6

**References:** 53

**Adres autorki:** dr Magdalena Orczyk-Pawilowicz, Katedra i Zakład Chemii i Immunochemii AM, ul. Bujwida 44a, 50-345 Wrocław; e-mail: [orczyk@immchem.am.wroc.pl](mailto:orczyk@immchem.am.wroc.pl)

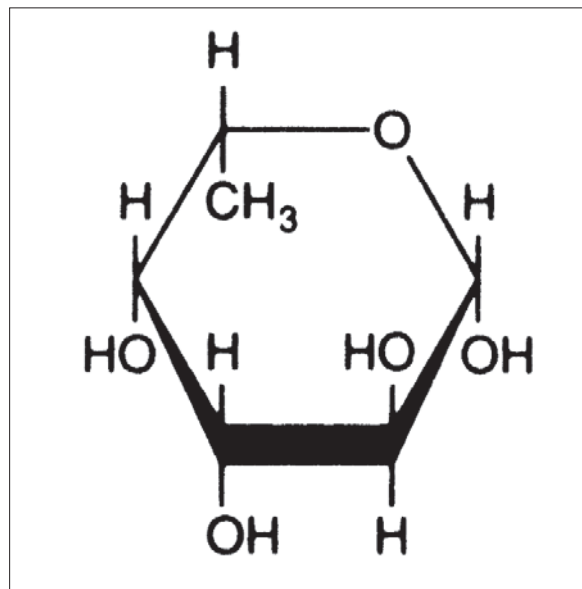
**Wykaz skrótów:** **ADCC** – cytotoksyczność komórkowa zależna od przeciwciał; **AFP** –  $\alpha$ -fetoproteina; **AGP- $\alpha$ 1** – kwaśna glikoproteina; **CA19-9** – antygen nowotworowy 19-9; **CDG** – wrodzone zaburzenia glikozylacji; **CEA** – antygen nowotworowo-płodowy; **EGF** – epidermalny czynnik wzrostu; **Fuc** – fukoza; **FucT** – fukozylotransferaza; **Gal** – galaktoza; **GDP-L-fukoza** – guanozynydwufosforan L-fukozy; **GlcNAc** – N-acetyloglukozamina; **LAD** – niedobór adhezji leukocytów; **Ser** – seryna; **SSEA** – antygen embrionalny okresowo swoisty; **TGF- $\beta$ 1** – transformujący czynnik wzrostu- $\beta$ 1; **Thr** – treonina; **TSP** – trombospondyna.

#### STRUKTURA I WYSTĘPOWANIE FUKOZY

Fukoza (Fuc) jest monocukrem (6-deoksy-galaktoza), zaliczanym do metylopentoz (ryc. 1). Ze względu na swoją, odmienną od pozostałych heksoz, budowę chemiczną: fragment hydrofobowy (grupa metylowa przy węglu 5) i hydrofilowy (grupy hydroksylowe przy węglu 2, 3, 4, 5) obecne w tej samej cząsteczce, fukoza jest niezwykle interesująca. Jest jedynym monocukrem o konfiguracji L występującym w glikokoniugatach, pozostałe monocukry wchodzące w skład glikokoniugatów mają konfigurację D. Fukoza tworzy wiązania  $\alpha$ -glikozydowe [2,35,44].

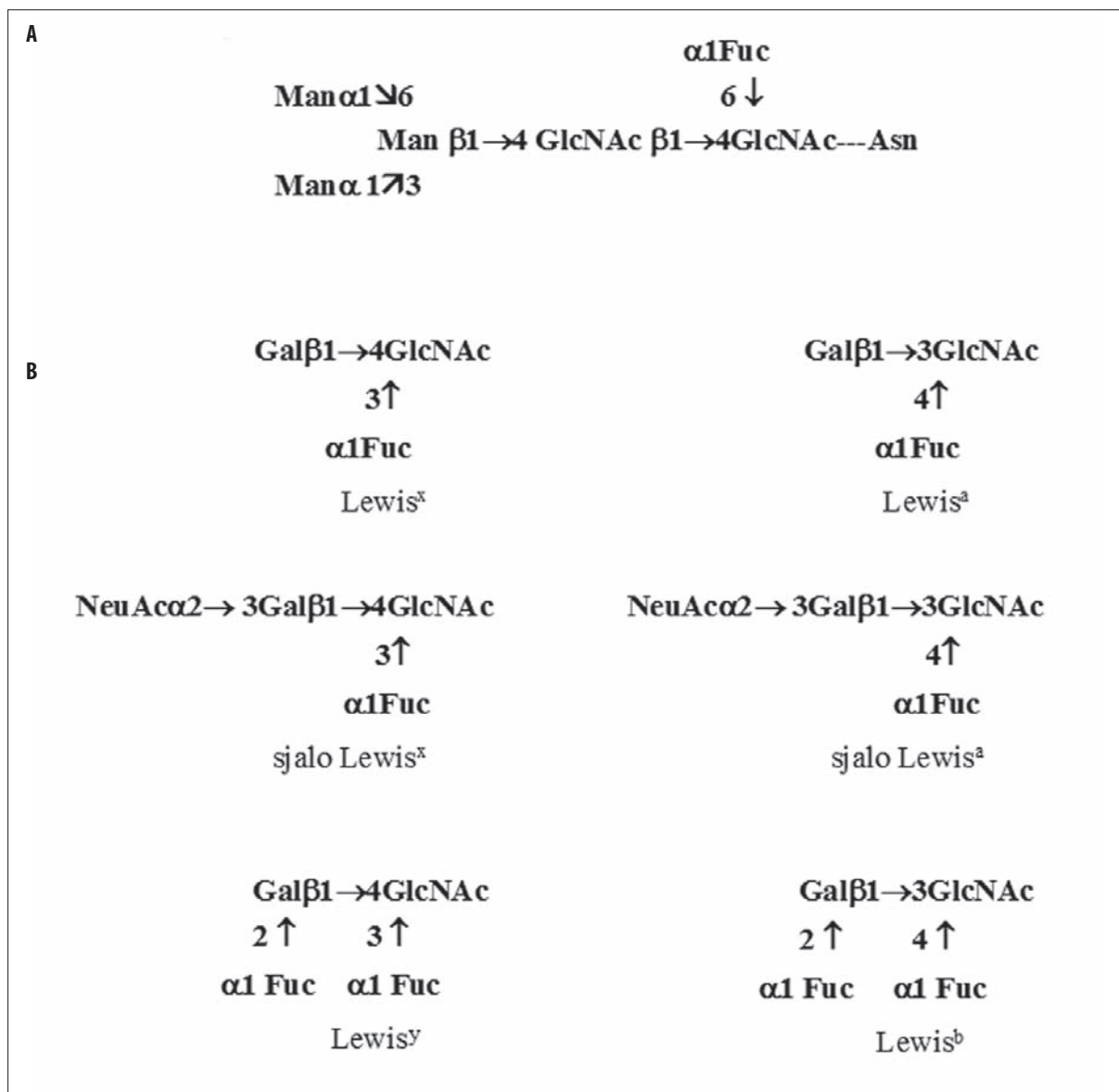
Fukoza występuje prawie we wszystkich organizmach. Jej obecność wykryto w łańcuchach cukrowych glikokoniugatów bakterii, glonów i grzybów, gdzie występuje w postaci usiarczanowanej jako fukoidan, roślin oraz u zwierząt (u bezkręgowców i kręgowców) [2,25,35,44].

Fukoza jest monocukrem, który może być przyłączony zarówno do N-, jak i O-glikanów glikokoniugatów błonowych i rozpuszczalnych (termin ogólny oznaczający glikoproteiny i glikolipidy); w ustroju może występować także w postaci wolnej w osoczu i w moczu. W strukturach oligosacharydowych glikokoniugatów fukoza występuje jako składnik końcowy, który nie ulega podstawieniu innym monocukrem oraz nie może być wbudowywana w struktury rdzeniowe łańcuchów oligosacharydowych. Fukoza może być przyłączona wiązaniem  $\alpha$ 1,6 do GlcNAc części rdzeniowej N-glikanów i jest określana jako fukoza proksymalna (rdzeniowa; innermost) (ryc. 2A), wiązaniem  $\alpha$ 1,3 lub  $\alpha$ 1,4 do subterminalnej cząsteczki GlcNAc na antenie oraz wiązaniem  $\alpha$ 1,2 do końcowej Gal anten (fukoza dystalna) obecnych w N- i O-glikanach (tab. 1, ryc. 2B). Najbardziej typowym wiązaniem fukozy jest wiązanie  $\alpha$ 1,6 do cząsteczki GlcNAc związanej z asparaginą łańcucha polipeptydowego [2,44].



Ryc. 1. Struktura chemiczna  $\beta$ -L-fukozy (Fuc)-6-deoksy- $\beta$ -L-galaktozy

Oprócz typowych wiązań fukozy do anten i/lub rdzenia w N- i O-glikanach, Harris i wsp. [13] wykazali nowy sposób przyłączenia fukozy, wiązaniem O-glikozydowym, bezpośrednio do Ser/Thr w łańcuchu polipeptydowym (Fuc- $\alpha$ -Ser/Thr) na domenach epidermalnego czynnika wzrostu (EGF). W przeciwieństwie do fukozy obecnej w N- i O-glikanach, występującej wyłącznie jako rozgałęzienie lub składnik końcowy struktur cukrowych, O-związana fukoza może ulegać podstawieniu innym monocukrem. Do białek zawierających Fuc- $\alpha$ -Ser/Thr zaliczamy: urokinazę, ludzki czynnik koagulujący VII, ludzki czynnik koagulujący IX i XII, receptor Notch 1 oraz ludzką trombospondynę (TSP) [2,13,24]. Dotąd wykazano dwie możliwe drogi wydłuża-



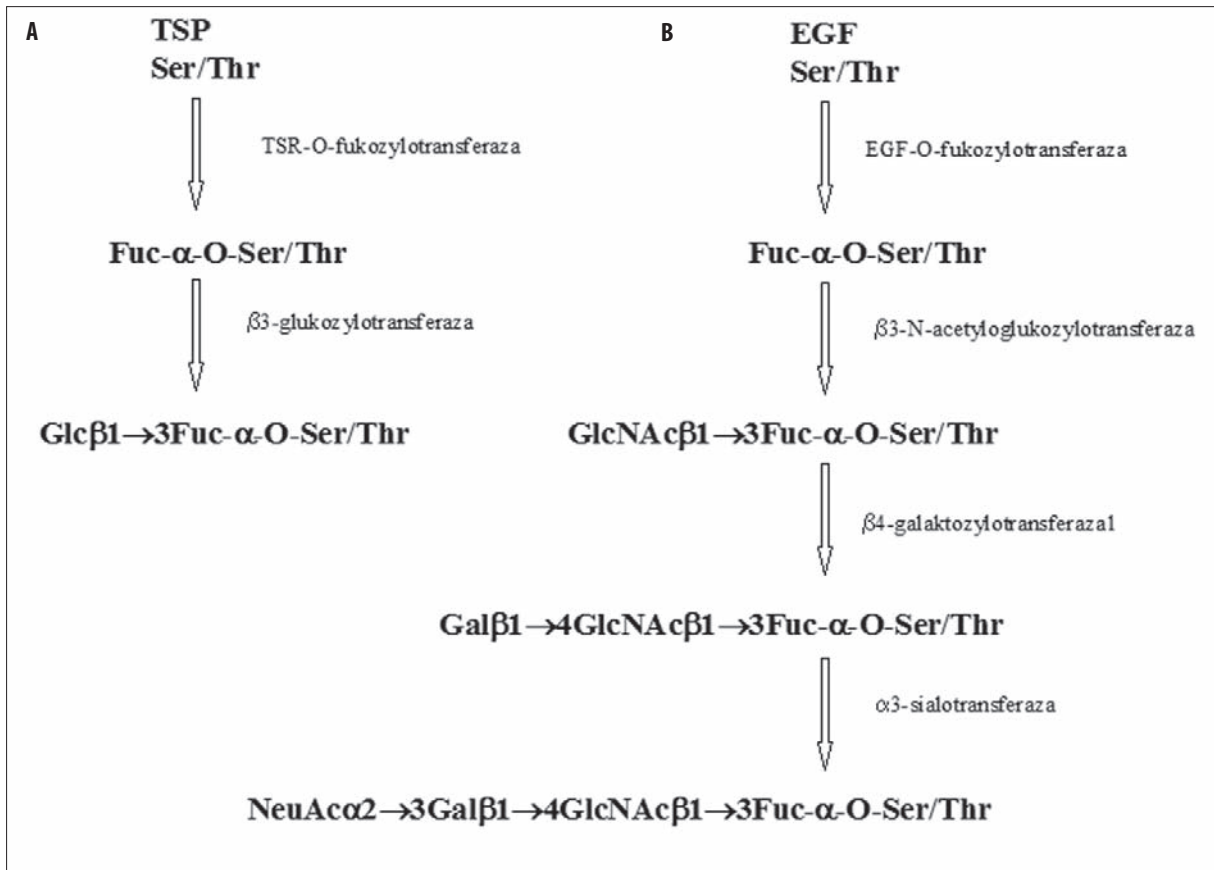
Ryc. 2. Miejsca przyłączenia fukozy do łańcuchów oligosacharydowych N- i O-glikokoniugatów; (A) struktura rdzeniowa N-glikanów z fukozą przyłączoną wiązaniem  $\alpha 1,6$  do N-acetyloglukozaminy; fukoza rdzeniowa, (B) struktury oligosacharydowe zawierające fukozę przyłączoną wiązaniem  $\alpha 1,2$  do galaktozy lub/i wiązaniem  $\alpha 1,3$  lub  $\alpha 1,4$  do N-acetyloglukozaminy zaliczane do antygenów typu Lewis, obecne na antenach N- i O-glikanów glikoprotein i/lub glikolipidów; Fuc – fukoza, Gal – galaktoza, GlcNAc – N-acetyloglukozamina, Man – mannoza, NeuAc – kwas sjałowy

Tabela 1. Występowanie fukozy w glikokoniugatach

Struktura glikanu	Występowanie
Fuc $\alpha 1,6$ GlcNAc-R rdzeniowa, proksymalna	N-glikany glikoprotein
Fuc $\alpha 1,3$ GlcNAc-R antenowa, dystalna	Lewis <sup>x</sup> w N- i O-glikanach, i w glikolipidach
Fuc $\alpha 1,4$ GlcNAc-R antenowa, dystalna	Lewis <sup>a</sup> w N- i O-glikanach, i w glikolipidach
Fuc $\alpha 1,2$ Gal-R antenowa, dystalna	Lewis <sup>b</sup> , Lewis <sup>y</sup> , antygen H typ 1 i 2 w glikokoniugatach

R – struktury oligosacharydowe glikokoniugatów.





Ryc. 3. Dwie możliwe drogi wydłużania O-związanej fukozy obecnej na TSP (A) i EGF (B); EGF – epidermalny czynnik wzrostu, Fuc – fukoza, Gal – galaktoza, Glc – glukoza, GlcNAc – N-acetyloglukozamina, NeuAc – kwas sjałowy, TSP – trombospondyna

nia O-związanej fukozy (ryc. 3). W pierwszym przypadku, dla ludzkiej trombospondyny, powstaje dwusacharydowa struktura, natomiast dla EGF czterosacharydowa liniowa struktura zakończona kwasem sjałowym [24].

#### UDZIAŁ FUKOZYLOTANSFERAZ W BIOSYNTYZIE FUKOZYLOWANYCH GLIKANÓW

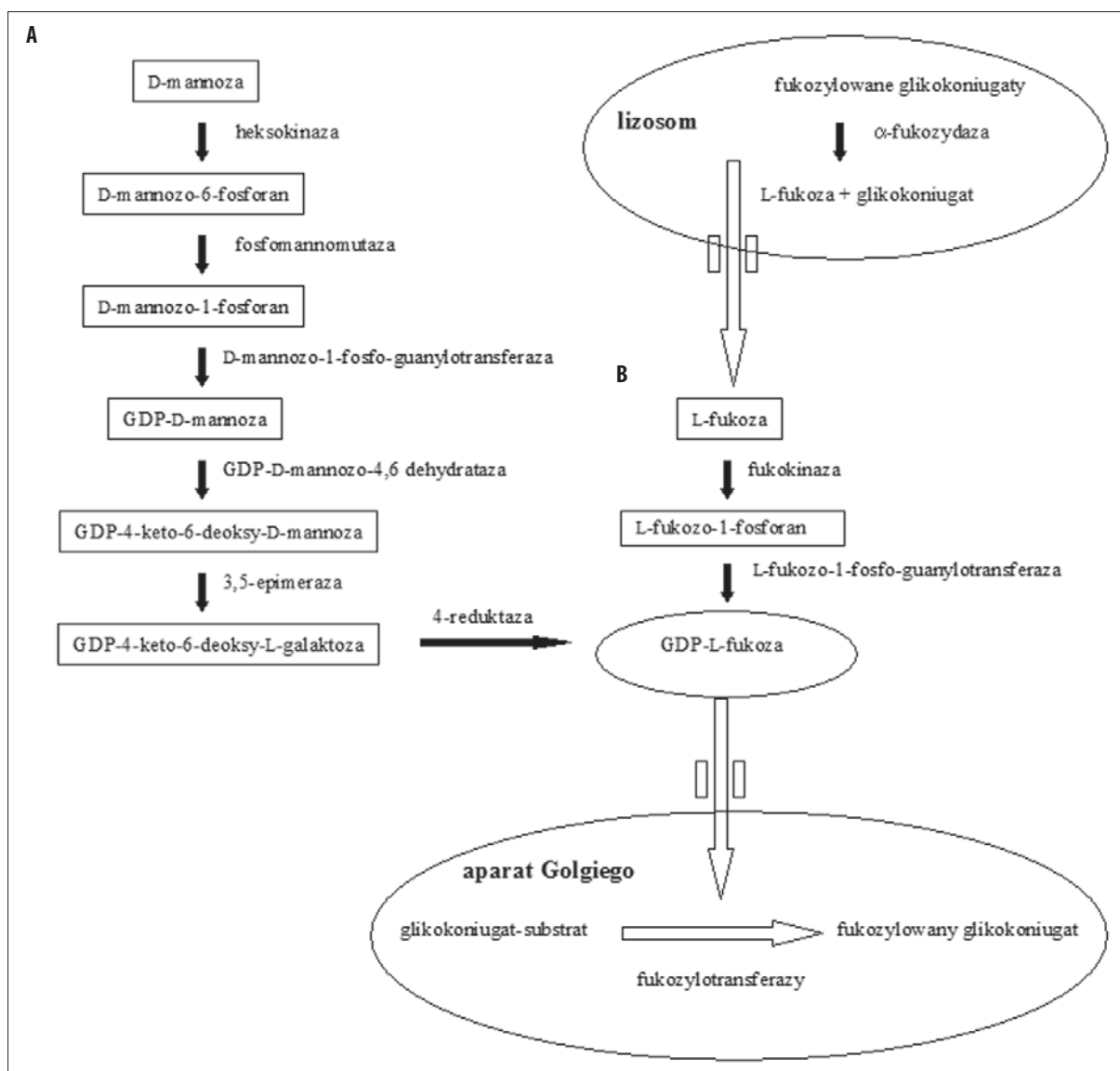
Fukoza jest przyłączana do łańcucha oligosacharydowego glikokoniugatów z udziałem specyficznych enzymów – fukozylotransferaz (FucT). Źródłem fukozy dla fukozylotransferaz, niezależnie od ich swoistości, jest guanozynodwufosforan fukozy (GDP-L-fukoza). Aktywny donator fukozy jest syntetyzowany w dwóch różnych szlakach metabolicznych (ryc. 4). Główną drogą jest synteza *de novo* (90%), z wolnej D-mannozy obecnej w cytoplazmie, która ulega przekształceniu przez enzymy najpierw do GDP-D-mannozy, a następnie z udziałem kompleksu enzymatycznego epimerazy i reduktazy (białko FX) do GDP-L-fukozy. Droga alternatywna, określana również jako „droga z odzysku”, wykorzystuje wolną fukozę, która jest obecna w cytoplazmie i pochodzi z łańcuchów cukrowych glikokoniugatów w wyniku działania α-fukozydazy, obecnej w lizosomach lub w przestrzeni zewnątrzkomórkowej. GDP-L-fukoza jest następnie transportowana do światła aparatu Golgiego. Z użyciem fukozylotransferaz, fukoza z aktywnego donora jest przenoszona na cząsteczkę Gal lub GlcNAc powstających struktur oligosacharydowych N- i/lub O-glikoprotein [2, 25].

Ekspresja fukozylotransferaz zależy od rodzaju tkanki, stanu rozwojowego i statusu fizjologicznego komórki [44]. Enzymy wykazują odmienną, ale częściowo nakładającą się na siebie swoistość substratową (tab. 2). Fukozylotransferazy III, IV, V i VI wykazują wysoki stopień podobieństwa w swoistości w przeciwieństwie do FucTVII i FucTIX.

Fukozylotransferazy są kodowane przez różne geny (FUT). Do tej pory zidentyfikowano w ludzkim genomie 13 genów kodujących fukozylotransferazy (tab. 2) [2].

#### BIOLOGICZNA FUNKCJA FUKOZY

Fukoza obecna w strukturach cukrowych glikokoniugatów błonowych i/lub rozpuszczalnych, wykazuje wiele właściwości biologicznych m.in. może modulować oddziaływanie między komórkami oraz między komórką i macierzą zewnątrzkomórkową, wpływa na wyciszenie reakcji immunologicznych, stymuluje proliferację fibroblastów. Fukozyłacja typu α1,6 chroni N-glikany przed hydrolizą przez glikoasparaginazę i jest potrzebna do polisjalizacji [2,35,37,49]. Najnowsze badania Nakagawy i wsp. [27], wykazały, że fukozyłacja glikoprotein wytwarzanych w wątrobie może być sygnałem do ich wydzielania do dróg żółciowych. W doświadczeniach *in vitro* prowadzonych na myszach wykazano zwiększoną fukozyłację glikoprotein obecnych w drogach żółciowych w porównaniu z glikoproteinami wydzielanymi do surowicy. Autorzy [27] uważa-



Ryc. 4. Biosynteza GDP-L-fukozy. W komórkach ssaków, GDP-fukoza jest syntetyzowana w dwóch szlakach: *de novo* (A) i z odzysku (B); szczegóły w tekście

ją, że obecność lub brak fukozy jest podstawą w sortowaniu „świeżo” syntetyzowanych glikoprotein w wątrobie. A mianowicie, wysoko fukozylowane, zwłaszcza w pozycji rdzeniowej, glikoproteiny są kierowane do dróg żółciowych, a glikoproteiny słabo fukozylowane do osocza. Mechanizm ten jest kolejnym, po kwasie sjałowym [1], przykładem regulacji metabolizmu glikoprotein w wątrobie z udziałem receptorów lektynowych.

Ze względu na końcowe umiejscowienie w łańcuchu oligosacharydowym glikokoniugatów, fukoza jest monocukrem-determinantą, która może być rozpoznawana przez inne cząsteczki (ligandy) i komórki. Z tego powodu, a także z powodu budowy chemicznej, fukoza uczestniczy w istotnych dla prawidłowego funkcjonowania komórek procesach rozpoznania biologicznego; najważniejsze z nich zostały omówione w dalszej części artykułu. Główne procesy biologiczne, w których fukoza odgrywa znaczącą rolę przedstawiono na ryc. 5.

### Fukoza jako składnik antygenów grupowych ABH

Obecność antygenów układu grupowego ABH wykazano na powierzchni ludzkich erytrocytów, gruczołowych komórek nabłonkowych oraz na komórkach śródbłonna. Są one najwcześniej i najlepiej poznanymi ufukozylowanymi glikotopami. Antygeny te są składnikami glikolipidów i glikoprotein błonowych [2,17]. W skład determinant antygenowych układu grupowego ABH wchodzi: galaktoza, fukoza (antygen H) i dodatkowo N-acetylogalaktozamina (antygen A) lub galaktoza (antygen B).

Antygen H jest dwusacharydem, stanowiącym szkielet trójsacharydowych antygenów A i B. Synteza antygeny H odbywa się z udziałem fukozylotransferaz. Fukoza jest przenoszona przez  $\alpha$ 1,2-fukozylotransferazę z aktywnego donora GDP-fukozy na końcową galaktozę glikoprotein i/lub glikolipidów (ryc. 6), w wyniku czego powstaje struktura antygeny H – Fuc $\alpha$ 1,2Gal.



Tabela 2. Charakterystyka ludzkich fukozylotransferaz

Gen kodujący fukozylotransferazę	Nazwa	Struktura cukrowa
FUT1	$\alpha$ 2fukozylotransferaza Fuc-TI lub Fuc-T(H)	antygen H, typ I-Fucc $\alpha$ 1,2Gal $\beta$ 1,3GlcNAc-R
FUT2	$\alpha$ 2fukozylotransferaza Fuc-TII lub Fuc-T(Se)	antygen H, typ II-Fucc $\alpha$ 1,2Gal $\beta$ 1,4GlcNAc-R
FUT3	$\alpha$ 3/4fukozylotransferaza Fuc-TIII, fukozylotransferaza antygenów Lewis	odpowiedzialna za przyłączenie fukozy wiązaniem $\alpha$ 1,3 lub $\alpha$ 1,4 do oligosacharydów w strukturach Lewis; bierze udział w syntezie: Lewis <sup>a</sup> , sjalo-Lewis <sup>a</sup> , Lewis <sup>b</sup> , Lewis <sup>c</sup> , sjalo-Lewis <sup>c</sup> , Lewis <sup>d</sup>
FUT4	$\alpha$ 3fukozylotransferaza Fuc-TIV	odpowiedzialna za końcową reakcję biosyntezy ligandów selektyn, polegającej na przyłączeniu fukozy do sjalowanych prekursorów; katalizuje syntezę Lewis <sup>d</sup> , Lewis <sup>e</sup>
FUT5	$\alpha$ 3fukozylotransferaza Fuc-TV	odpowiedzialna za syntezę Lewis <sup>d</sup> , sjalo-Lewis <sup>c</sup> , Lewis <sup>b</sup> , sjalo-Lewis <sup>a</sup>
FUT6	$\alpha$ 3fukozylotransferaza Fuc-TVI	odpowiedzialna za syntezę Lewis <sup>d</sup> , sjalo-Lewis <sup>c</sup>
FUT7	$\alpha$ 3fukozylotransferaza Fuc-TVII	odpowiedzialna za końcową reakcję biosyntezy ligandów selektyn, polegającej na przyłączeniu fukozy do sjalowanych prekursorów; bierze udział w syntezie sjalo-Lewis <sup>c</sup>
FUT8	$\alpha$ 6fukozylotransferaza Fuc-TVIII	odpowiedzialna za przyłączenie fukozy rdzeniowej wiązaniem $\alpha$ 1,6 w N-glikanach
FUT9	$\alpha$ 3fukozylotransferaza Fuc-TIX	odpowiedzialna za syntezę Lewis <sup>d</sup> i Lewis <sup>e</sup>
FUT10	przypuszczalnie $\alpha$ 3fukozylotransferaza Fuc-TX	nieznana
FUT11	przypuszczalnie $\alpha$ 3fukozylotransferaza Fuc-TXI	nieznana
POFUT1	O-fukozylotransferaza polipeptydu	przyłączenie Fuc do Ser i/lub Thr bezpośrednio w łańcuchu polipeptydowym na domenach EGF
POFUT2	O-fukozylotransferaza polipeptydu	przyłączenie Fuc do Ser i/lub Thr bezpośrednio w łańcuchu polipeptydowym na domenach TSR

Przyłączenie do antygeny H cząsteczki N-acetylogalaktozaminy (wiązaniem  $\beta$ 1,3 do galaktozy) z udziałem transferazy A prowadzi do powstania antygeny A (ryc. 6). Natomiast, gdy do antygeny H zostanie przyłączona cząsteczka galaktozy (z udziałem transferazy B) powstaje antygen B (ryc. 6). Na krwinkach czerwonych grupy O znajduje się niezmodyfikowany antygen H [2].

Antygeny A, B i H są wysoce immunogenne, ponieważ stymulują układ immunologiczny biorcy do syntezy przeciwciał odpornościowych w odpowiedzi na obce krwinki dawcy. Funkcjonalne znaczenie ekspresji antygenów układu AB na powierzchni erytrocytów nie zostało do końca zdefiniowane [2,17].

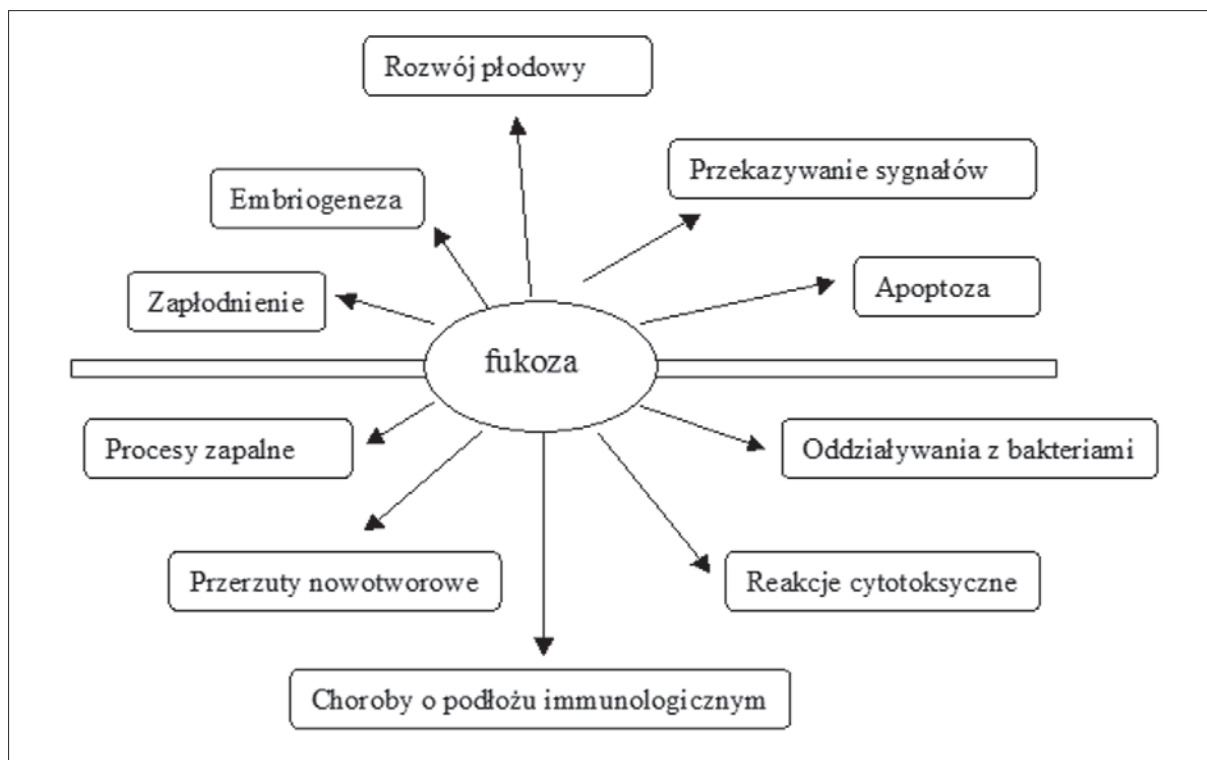
Do rodziny antygenów grupowych krwi zaliczamy także grupę antygenów typu Lewis. Glikotopy typu Lewis są heterogenną grupą antygenów, zbudowanych ze wspólnego rdzenia laktozaminowego (Gal $\beta$ 1,3GlcNAc-typ I lub Gal $\beta$ 1,4GlcNAc-typ II), do którego jest przyłączona cząsteczka fukozy. Różnią się między sobą sposobem i ilością przyłączonej fukozy do GlcNAc lub/i Gal. Na tej podstawie możemy wyróżnić cztery struktury typu Lewis: Lewis<sup>a</sup> (Le<sup>a</sup>), Lewis<sup>b</sup> (Le<sup>b</sup>), Lewis<sup>c</sup> (Le<sup>c</sup>), Lewis<sup>d</sup> (Le<sup>d</sup>) (ryc. 2B).

W glikotopie Lewis<sup>a</sup> cząsteczka fukozy jest przyłączona wiązaniem  $\alpha$ 1,4 do GlcNAc rdzenia laktozaminowego typu I. Przyłączenie drugiej cząsteczki Fuc wiązaniem  $\alpha$ 1,2 do Gal prowadzi do powstania glikotopu Lewis<sup>b</sup>. Natomiast w glikotopie Lewis<sup>c</sup> fukoza jest przyłączona wiązaniem  $\alpha$ 1,3 do GlcNAc rdzenia laktozaminowego typu II. Przyłączenie drugiej cząsteczki Fuc wiązaniem  $\alpha$ 1,2 do Gal prowadzi do powstania glikotopu Lewis<sup>d</sup>. Struktury podstawowe typu Lewis mogą występować w postaci usjalowanej, dzięki przyłączeniu do cząsteczki Gal kwasu sjalowego wiązaniem  $\alpha$ 2,3-glikozydowym (ryc. 2B). Powstają wtedy odpowiednio struktury: sjalo-Lewis<sup>a</sup> i sjalo-Lewis<sup>c</sup>, nadając ujemny ładunek całej strukturze antygeny.

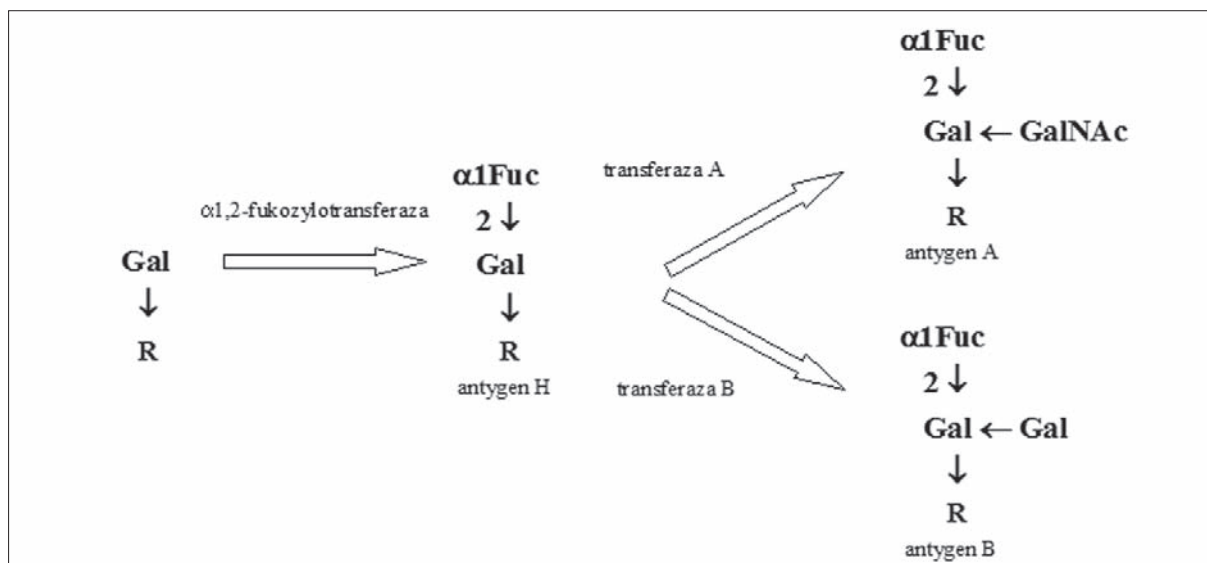
#### ZNACZENIE FUKOZYLAJCJI W PROCESACH FIZJOLOGICZNYCH

##### Udział fukozy w zapłodnieniu i rozwoju płodowym

Dotychczasowe doniesienia opisują główne znaczenie oddziaływań cukier-białko oraz cukier-cukier w regulacji, przynajmniej częściowej, procesu zapłodnienia [7,12]. Struktury cukrowe zawierające fukozę wchodzącą w skład glikotopów Lewis<sup>a</sup> i/lub Lewis<sup>d</sup> są obecne w plazmie nasienia ludzkiego, jako wolne oligosacharydy lub przyłączone do glikoko-



Ryc. 5. Rola fukozy w procesach patofizjologicznych



Ryc. 6. Synteza antygenów grupowych krwi AB; Fuc – fukoza, Gal – galaktoza, GalNAc – N-acetylogalaktozamina, R – prekursor laktozaminowy

niugatów, i uczestniczą w oddziaływaniach oraz w wiązaniu spermy do komórki jajowej, promując proces zapłodnienia. Dodatkowo wykazano obecność fukozylotransferaz i ich produktów na powierzchni plemników u szczurów, gdzie prawdopodobnie biorą udział w procesie adhezji [5,42].

W licznych pracach doświadczalnych wykazano, że na powierzchni oocyty myszy, świni i bydła znajdują się liczne fukozylowane glikokoniugaty, które uczestniczą w oddziaływaniach z glikokoniugatami obecnymi w spermie. Jakkolwiek na powierzchni ludzkiej komórki jajowej wykazano obecność

innego czterosacharydowego glikotopu  $Fuc\alpha 1,2Gal\beta 1,3(Fuc\alpha 1,4)GlcNAc$  na N- i O-glikanach, który stanowi ligand dla receptorów obecnych na powierzchni plemników. Struktury takiej nie zidentyfikowano u świni i u bydła, co wskazuje, że proces wiązania spermy jest gatunkowo swoisty [42,44].

W czasie embriogenezy, na powierzchni komórek embrionalnych, zidentyfikowano glikokoniugaty należące do grupy antygenów embrionalnych okresowo swoistych (stage-specific embryonic antigens – SSEAs), odpowiadające strukturalnie antygenom typu Lewis<sup>x</sup>. Cząsteczki te mogą pełnić różne



funkcje w trakcie rozwoju embrionu, takie jak regulacja wzrostu komórek, rozpoznanie i różnicowanie. Część SSEA-1 prawdopodobnie odgrywa główną rolę w formowaniu blastocytu w czasie rozwoju embrionalnego u myszy [7,12].

Znaczenie fukozytacji nie ogranicza się jedynie do ekspresji fukozy w glikokoniugatach obecnych na powierzchni komórek. Zmiany pojawiają się również w glikoproteinach płynu owodniowego. Wykazano wzrost ekspresji fukozy rdzeniowej ( $\alpha$ 1,6) w glikanach  $\alpha$ -fetoproteiny (AFP), obecnej w płynie owodniowym ciąży powikłanych zespołem Downa w porównaniu z ciążami fizjologicznymi [53]. W trakcie trwania ciąży obserwuje się zwiększoną fukozytację w pozycji rdzeniowej również w glikanach syntetazy prostaglandyny D obecnej w płynie owodniowym [26]. Badania van Rooijena i wsp. [47] wykazały obecność  $\alpha$ 1,3 fukozylowanych dwu- i trójantennowych N-glikanów, przedstawiających glikotop sjało-Lewis<sup>x</sup> w transferynie pochodzącej z płynu owodniowego z II trymestru, który nie występuje w glikanach transferyny surowiczej. Wykazano również wyższy stopień  $\alpha$ 1,6 fukozytacji w porównaniu z transferyną surowiczą. Dodatkowo stwierdzono obecność aktywnej  $\alpha$ 1,3-fukozylotransferazy w płynie owodniowym. Pozwala to przypuszczać, że biosynteza struktur sjało-Lewis<sup>x</sup> odbywa się w płynie owodniowym, niemniej jednak dotąd nie wykazano obecności donora cząsteczki fukozy (GDP-Fuc) w płynie owodniowym [47]. Analogiczną sytuację obserwuje się dla glikodeliny A obecnej w płynie owodniowym, na której glikanach obserwuje się zwiększoną ekspresję antygenów sjało-Lewis<sup>x</sup> i sjało-Lewis<sup>a</sup> w stosunku do glikodeliny surowiczej [18]. Sugeruje się, że struktury cukrowe zawierające fukozę modulują oddziaływania z innymi cząsteczkami.

Badania dotyczące glikozylacji glikokoniugatów płynu owodniowego pochodzącego z ciąży fizjologicznych z II i III trymestru wykazały wzrost fukozytacji typu  $\alpha$ 1,6 wraz z wiekiem ciąży. Dodatkowo wykazano wzrost fukozytacji typu  $\alpha$ 1,3, a także  $\alpha$ 1,2 w ciążach po terminie w stosunku do okresu okołoporodowego [32]. W ciążach powikłanych przedwczesnym odpływaniem płynu owodniowego, w przypadku których głównym czynnikiem odpowiedzialnym za zakończenie ciąży przed terminem są procesy zapalne, wykazano wzrost ekspresji fukozy wiązanej  $\alpha$ 1,3 w glikanach glikokoniugatów płynu owodniowego [33]. Obecność tego typu fukozytacji, występującego w glikotopach Lewis<sup>x</sup>, jest charakterystyczne dla procesów zapalnych. Najnowsze badania fukozytacji glikanów fibronektyny pochodzącej z płynów owodniowych ciąży powikłanych infekcją wewnątrzmaciczną wykazały dwukrotny wzrost ekspresji fukozy wiązanej  $\alpha$ 1,6 w stosunku do grupy ciąży fizjologicznych. Nie wykazano natomiast różnic w ekspresji fukozy przyłączonej wiązaniem  $\alpha$ 1,3 [15].

Badania Nemansky'ego i wsp. [28] nad glikozylacją hormonów glikoproteinowych wykazały zależną od wieku ciąży regulację aktywności enzymów biorących udział w syntezie N-glikanów typu złożonego: N-acetyloglukozaminylotransferaz (IV i V) oraz  $\alpha$ 1,6-fukozylotransferazy. Ekspresja rdzeniowej fukozy w glikanach podjednostki  $\alpha$  hormonów glikoproteinowych, obecnej w moczu kobiet ciężarnych, wzrasta w drugim trymestrze [28].

Zmiany w ekspresji fukozy pojawiają się również w trakcie rozwoju w tkankach młodych zwierząt. Są one wynikiem zmian w aktywności fukozylotransferaz, których ekspresja zależy od stadium rozwoju. U szczurów wykazano zmiany w profilu fukozytacji od dnia narodzin, przez okres noworodkowy, okres odstawienia od ssania, do chwili uzyskania profilu charakterystycznego dla osobników dorosłych [23].

### **Wpływ fukozy na przekazywanie impulsów między neuronami**

Glikoproteiny znajdujące się na powierzchni błony presynaptycznej neuronów, mające glikotopy zawierające fukozę, są rozpoznawane przez receptory glikoprotein obecne na błonie postsynaptycznej. Rozpoznanie, w którym uczestniczy fukoza, odgrywa niezmiernie ważną rolę w komunikacji komórek nerwowych oraz w tworzeniu trwałych dróg pamięci. Ekspresja fukozy, głównie fukozy wiązanej  $\alpha$ 1,2 do galaktozy (Fuc $\alpha$ 1,2Gal), w glikokoniugatach obecnych w mózgu, wzrasta w odpowiedzi na zachodzące procesy uczenia się i zapamiętywania [14].

Podawanie roztworów fukozy (6-deoksy-galaktozy) szczurom wzmacnia ich pamięć i podnosi zdolność do tworzenia trwałych dróg pamięci. Molekularne mechanizmy, za pomocą których fukoza stymuluje komunikację między neuronami w mózgu, nie są jeszcze do końca poznane. Badania na zwierzętach wykazały, że podawanie 2-deoksy-galaktozy powoduje zahamowanie fukozytacji białek w mózgu, i prowadzi do rozwoju amnezji. Obniżenie fukozytacji jest spowodowane w tym przypadku brakiem grupy hydroksylowej przy C-2 w 2-deoksy-galaktozie, co uniemożliwia przyłączenie cząsteczki fukozy wiązaniem  $\alpha$ 1,2 do galaktozy i blokuje tworzenie dwusacharydowej struktury Fuc $\alpha$ 1,2Gal [4,14].

### **Udział fukozylowanych glikotopów w procesie adhezji leukocytów**

Fukoza jest jednym z elementów struktur cukrowych obecnych na powierzchni leukocytów, które stanowią ligandy selekty. Selekty należą do grupy białek błonowych typu C-lektyn. Wyróżniamy trzy typy selekty, ze względu na miejsce występowania: L-selekty są obecne na powierzchni leukocytów, E-selekty na komórkach nabłonkowych oraz P-selekty na płytkach krwi i na komórkach nabłonkowych. Selekty rozpoznają i wiążą swoje struktury oligosacharydowe (ligandy) glikokoniugatów obecnych na powierzchni leukocytów, co inicjuje pierwotny proces adhezji, a następnie toczenia się leukocytów po nabłonku. Ligandy cukrowe selekty należą do grupy glikotopów typu Lewis (ryc. 6) [2,48,52].

Oddziaływania czterosacharydowych struktur sjało-Lewis<sup>x</sup> zawierających fukozę związaną  $\alpha$ 1,3 z selektynami leżą u podstaw molekularnych, takich procesów jak m.in. zasiedlania krążących leukocytów w węzłach chłonnych, kierowania limfocytów do narządów docelowych oraz uczestniczenia w procesie toczenia i przylegania leukocytów do komórek śródbłonna. Sugeruje się uczestnictwo struktur sjało-Lewis w modulacji komórkowej adhezji, agregacji i aglutynacji oraz w modulacji funkcji receptorów [2,19,46].



Za fizjologiczne krążenie leukocytów jest odpowiedzialna prawidłowa ekspresja i aktywność dwóch fukozylotransferaz: Fuc-TIV i Fuc-TVII, które uczestniczą w syntezie ligandów selektyń [51].

### Wpływ fukozy na przekazywanie sygnałów przez receptory

Najnowsze badania Wanga i wsp. [49] wykazały, że fukozyłacja rdzeniowa (wiązanie  $\alpha$ 1,6 do GlcNAc) glikanów receptora epidermalnego czynnika wzrostu (receptor EGF) jest niezbędna do wiązania tego czynnika przez receptor, natomiast nie ma wpływu na jego ekspresję na powierzchni komórek. Doświadczenia przeprowadzone na myszach wykazały, że uszkodzenie genu kodującego fukozylotransferazę – Fuc-TVIII, odpowiedzialną za przyłączanie fukozy rdzeniowej do N-glikanów receptora EGF, wpływa na silne zahamowanie wzrostu embrionu, zmiany w płucach charakterystyczne dla rodymy oraz wczesną śmierć w okresie poporodowym. Dodatkowo brak rdzeniowej fukozy powoduje znaczące obniżenie przekazywania sygnałów przez receptor EGF. Autorzy sugerują, że fukozyłacja może mieć podstawowe znaczenie w molekularnym mechanizmie regulującym wzrost komórek oraz ich różnicowanie u myszy. Fukozyłacja typu  $\alpha$ 1,6 jest również konieczna do prawidłowego funkcjonowania receptora transformującego czynnika wzrostu- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) u myszy. Zakłócenie ekspresji genu kodującego Fuc-TVIII wpływa na nieprawidłową glikozylację, co powoduje, podobnie jak w wypadku receptora EGF, silne zahamowanie wzrostu i śmierć w okresie poporodowym [49,50].

### Udział fukozy w mechanizmie immunologicznego uszkodzenia tkanek

Fukozyłacja typu rdzeniowego jest wymagana do prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego. Brak fukozy przyłączonej wiązaniem  $\alpha$ 1,6 do GlcNAc w N-glikanach dwuantenowych IgG<sub>1</sub> powoduje aż 50-krotny wzrost wiązania cząsteczki przez receptor Fc $\gamma$ RIIIA, natomiast nie ma wpływu na wiązanie przez receptory Fc $\gamma$ RI i Fc $\gamma$ RII [41]. Immunoglobuliny klasy IgG po związaniu antygenów obecnych na powierzchni komórek, mogą uczulać je na atak cytotoksyczny. Wzmocnione, dzięki nieobecności fukozy, wiązanie fragmentu Fc IgG przez receptor Fc $\gamma$ RIIIA obecny na powierzchni naturalnych komórek zabijających (komórki NK) powoduje zwiększenie cytotoxyczności komórkowej zależnej od przeciwciał (ADCC – antibody-dependent cellular cytotoxicity). Uważa się, że fukoza przyłączona wiązaniem  $\alpha$ 1,6 do N-glikanów IgG jest decydującym składnikiem, który wpływa na inaktywację komórek docelowych poprzez lizę zależną od przeciwciał (ADCC) [30].

### Udział fukozy w programowanej śmierci komórki

Fukozyłacja odgrywa również znaczącą rolę w procesie programowanej śmierci komórki (apoptozie). Na powierzchni mysich tymocytów, wykazano wzrost ekspresji fukozy po indukcji procesu apoptozy. Badania histologiczne tkanek prawidłowych oraz zmienionych nowotworowo wykazały znaczną korelację między zwiększoną ekspresją antygeny Lewis<sup>y</sup> i/lub Lewis<sup>x</sup> a procesem apoptozy. W badaniach *in vitro*, wzrost fukozyłacji glikokoniugatów obecnych na po-

wierzchni komórek był powodowany przez różne czynniki. Sugeruje to, że nie jest to sygnał do rozpoczęcia apoptozy, ale jest tylko jednym z rezultatów 'programowanej' śmierci komórki [37,44].

Badania ludzkich limfocytów, w których indukowano proces apoptozy (*in vitro*), wykazały wzrost ekspresji fukozy związanej  $\alpha$ 1,2 do galaktozy na ich powierzchni. Dodatkowo obserwowano wzrost fukozyłacji wraz ze stopniem zaawansowania procesu, niemniej jednak dokładny mechanizm nadal pozostaje nieznany [9].

## ZNACZENIE FUKOZYŁACJI W PROCESACH PATOLOGICZNYCH

### Zaburzenia o podłożu genetycznym

Wrodzone zaburzenia glikozylacji (congenital disorders of glycosylation – CDG) wcześniej znane pod nazwą „zespół obniżonej glikozylacji glikoprotein” są grupą chorób genetycznych związanych z nieprawidłową i/lub zmienioną glikozylacją. Niedobór adhezji leukocytów typu II (leukocyte-adhesion deficiency type II – LAD II), znany również jako CDG typu IIc, jest rzadką, ciężką chorobą immunologiczną. Neutrofile pacjentów z LAD II nie mają na swojej powierzchni struktur cukrowych sialo-Lewis<sup>x</sup>, prowadzi to do znacznego upośledzenia psychomotorycznego oraz ciężkich, nawracających infekcji. Brak na powierzchni neutrofilów glikotopów Lewis, w skład których wchodzi fukoza, jest drugorzędny w stosunku do ogólnego niedoboru fukozy, spowodowanego zaburzeniami w transporcie fukozy. Niedobór białka transportującego GDP-Fuc z cytoplazmy do światła aparatu Golgiego, gdzie przebiega końcowy etap glikozylacji, uniemożliwia wbudowywanie cząsteczki fukozy w struktury cukrowe glikokoniugatów [3,10].

Zmiany w fukozyłacji N-glikanów mogą się również pojawiać u pacjentów z CDG typu I, zwłaszcza tam, gdzie wykryto defekt w genach kodujących enzymy uczestniczące w syntezie GDP-mannozy, pośredniego substratu w syntezie GDP-fukozy (synteza *de novo*) [10].

Drugą grupą chorób o podłożu genetycznym, która wpływa na katabolizm fukozy, są glikoproteinozy. Są one spowodowane mutacją lub delecją genów kodujących enzymy lizosomalne uczestniczące w katabolizmie glikoprotein, m.in.: sialidazy, galaktozydazy, fukozydazy, mannozydazy, co prowadzi do akumulowania niezdegradowanych łańcuchów oligosacharydowych w lizosomach [36].

### Reumatoidalne zapalenie stawów

Stopień fukozyłacji i/lub sposób przyłączenia reszt fukozy do struktur cukrowych glikokoniugatów może ulegać dynamicznym zmianom w zależności od stanu patofizjologicznego organizmu. Wzrost fukozyłacji nie może zastąpić tradycyjnych markerów dla tej choroby, niemniej jednak daje dodatkowe informacje o jej progresji [38].

Wzrost ekspresji fukozy w glikanach cząsteczek IgG, obecnych w surowicy, obserwuje się niezależnie od wieku pacjenta, zarówno u młodych, jak i u dorosłych osób z reumatoidalnym zapaleniem stawów. Fukozyłacja wzrasta 2,5-krotnie w stosunku do grupy kontrolnej, niezależnie od tego czy pacjent znajduje się w fazie ostrej choroby, czy



w okresie remisji choroby. Zwiększona fukozyłacja jest bardziej wiarygodnym parametrem pomiarowym w diagnostyce choroby, niż degalaktosylacja, która jest dobrym testem do wykrycia i pomiaru aktywności choroby u pacjentów z młodzieńczym przewlekłym reumatoidalnym zapaleniem stawów. Niestety, nie wiadomo, czy zmiany te są istotne w patogenezie stanów zapalnych stawów i czy są konsekwencją regulacji procesu fukozyłacji przez mechanizmy autoimmunologiczne [11]. U pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów wykazano również wzrost fukozyłacji glikanów AGP, jednego z białek ostrej fazy [38].

### Mukowiscydoza

Inną chorobą, w której obserwuje się zmiany w poziomie fukozyłacji glikokoniugatów błonowych jest mukowiscydoza. W glikanach mucyn, obecnych na komórkach nabłonkowych wyścielających drogi oddechowe, obserwuje się wzrost ekspresji struktur Lewis<sup>x</sup> wraz ze współistniejącym spadkiem usjalowania [40]. Dwa główne patogeny *Pseudomonas aeruginosa* i *Haemophilus influenzae*, odpowiedzialne za przewlekłe infekcje płuc towarzyszące mukowiscydozie, mają na swojej powierzchni białka rozpoznające i wiążące Fuc, obecne w strukturach typu Lewis<sup>x</sup>. Scanlin i Gluck [40] uważają, że wzrost fukozyłacji jest głównym elementem odpowiedzialnym za przewlekłe infekcje bakteryjne i silną odpowiedź zapalną towarzyszącą mukowiscydozie.

### Procesy zapalne

W stanach zapalnych występują procesy, w których dochodzi do rozpoznania swoistych struktur cukrowych zawierających fukozę. Selektyny obecne na powierzchni komórek nabłonkowych i na trombocytach uczestniczą w procesie adhezji leukocytów do powierzchni komórek nabłonkowych. Wykazano, że E-selektyny na aktywowanym procesem zapalnym nabłonku mają zdolność wiązania leukocytów dzięki obecności na ich powierzchni mucynowo związanych oligosacharydowych struktur zawierających glikotopy sjalo-Lewis<sup>x</sup> i/lub sjalo-Lewis<sup>a</sup>, rozpoczynając w ten sposób ich wynaczynienie [46,51,52]. Badania przeprowadzone na myszach wykazały, że prawidłowa ekspresja fukozylotransferaz (Fuc-TIV i Fuc-TVII) odpowiedzialnych za syntezę struktur typu Lewis jest niezbędna do prawidłowej odpowiedzi neutrofilów i komórek T na rozwijający się proces zapalny [43]. Delmotte i wsp. [6] wykazali wzrost ekspresji struktur sjalo-Lewis<sup>x</sup> oraz zwiększone usjalowanie glikanów mucyn pochodzących z dróg oddechowych w trakcie procesu zapalnego.

W procesach zapalnych oprócz wzrostu fukozyłacji glikokoniugatów błonowych, obserwuje się zmiany w strukturze łańcuchów cukrowych w surowicy, głównie białek ostrej fazy. W glikanach AGP wykazano wzrost ekspresji fukozy wchodzącej w skład glikotopu sjalo-Lewis<sup>x</sup>, który jest ligandem selektyn [20,46]. Według koncepcji Van Dijka i wsp. [46] wzrost ekspresji tego glikotopu może modulować odpowiedź immunologiczną przez hamowanie adhezji leukocytów do komórek śródbłonna.

### Nienowotworowe choroby wątroby

U osób z ostrymi chorobami wątroby oraz marskością w następstwie przewlekłego procesu zapalnego lub nad-

używania alkoholu obserwuje się zwiększoną fukozyłację w stosunku do grupy kontrolnej [39]. Wykazano wzrost zarówno fukozy wolnej, jak i związanej z glikanami glikoprotein w surowicy oraz fukozy wolnej obecnej w moczu. Dodatkowo wykazano, że wzrost ten jest większy w chorobach przewlekłych w porównaniu z chorobami wątroby o ostrym przebiegu. Wzrost wolnej fukozy spowodowany jest zwiększoną aktywnością fukozydazy, enzymu lizosomalnego odpowiedzialnego za uwalnianie tego monocukru z glikanów glikokoniugatów [39].

### Choroby nowotworowe

Fukoza i kwas sjałowy wchodzą w skład determinant cukrowych typu sjalo-Lewis, które są zaliczane do grupy antygenów cukrowych towarzyszących nowotworom [34]. Procesowi transformacji nowotworowej towarzyszy nieprawidłowa glikozylacja glikokoniugatów, w wyniku której dochodzi do ekspresji zmienionych lub niekompletnych struktur oligosacharydowych, zawierających glikotopy typu sjalo-Lewis<sup>x</sup> [19,21,52].

W procesach nowotworowych możemy wyróżnić dwa kierunki zmian, w których uczestniczą glikotopy zawierające fukozę. Po pierwsze, obserwuje się obniżoną ekspresję antygenów grupowych krwi A i B z jednoczesnym wzrostem ekspresji antygeny H i Lewis<sup>x</sup>. Zmiany te korelują ze złym rokowaniem [21,34]. Po drugie, na powierzchni komórek nowotworowych obserwuje się zwiększoną ekspresję glikotopów sjalo-Lewis<sup>x</sup> i sjalo-Lewis<sup>a</sup>. Wzrost ekspresji tych glikotopów również jest powiązany z zaawansowaniem procesu nowotworowego oraz ze złym rokowaniem. Mechanizm molekularny leżący u podstaw tego procesu jest tylko częściowo wyjaśniony. Uważa się, że struktury sjalo-Lewis<sup>x</sup> i sjalo-Lewis<sup>a</sup> komórek nowotworowych obecnych w krwiobiegu są ligandami cząsteczek selektyn obecnych na nabłonku wyścielającym naczynia krwionośne i odpowiadają w dużej mierze za tworzenie się przerzutów nowotworowych, na skutek bezpośredniego wiązania komórek nowotworowych przez E- i P-selektyny nabłonka [19,21,52].

Struktura sjalo-Lewis<sup>x</sup> odgrywa główną rolę w adhezji komórek nowotworowych wywodzących się z okrężnicy, odbytnicy i trzustki, natomiast glikotop sjalo-Lewis<sup>a</sup> głównie dla adhezji komórek raka piersi, jajników i płuc [19]. Wzrost ekspresji glikotopów typu Lewis na komórkach raka okrężnicy, płuc, piersi, żołądka, prostaty i pęcherza moczowego silnie koreluje ze złośliwością nowotworu i złym rokowaniem. Natomiast nie wykazano takiej zależności dla komórek raka wątroby i nerek [19].

Oprócz zmian w fukozyłacji glikokoniugatów błonowych, w procesie nowotworzenia obserwuje się również zmiany w glikozylacji glikoprotein surowicznych. Wzrost fukozyłacji rdzeniowej  $\alpha$ -fetoproteiny, glikoproteiny nowotworowo-łożyskowej, obserwuje się w surowicy osób z nowotworami wątroby. Oznaczenie poziomu fukozyłacji AFP jest dobrze znanym markerem nowotworowym, wykorzystywanym w różnicowaniu pomiędzy pacjentami z przewlekłymi chorobami wątroby a nowotworami tego narządu [31,45].

Badania haptoglobiny, jednego z białek ostrej fazy, pochodzącej z płynów wysiękowych pacjentek z rakiem jajnika

wykazały znacznie wyższy stopień fukozytacji w porównaniu z haptoglobina surowiczą osób zdrowych. Wzrost dotyczył głównie fukozytacji rdzeniowej oraz wzrostu ekspresji glikotopu Lewis<sup>x</sup> [8]. Analiza glikanów haptoglobiny i AGP z surowicy osób z rakiem płuc także wykazała wzrost fukozytacji rdzeniowej oraz obecnej w glikotopie Lewis<sup>x</sup> w stosunku do grupy kontrolnej [22]. Okuyama i wsp. [31] wykazali przydatność określania fukozytacji haptoglobiny obecnej w surowicy, jako nowego markera u pacjentów z rakiem trzustki. Wzrost ekspresji dotyczy zarówno fukozy przyłączonej wiązaniem  $\alpha$ 1,6 do GlcNAc w rdzeniu N-glikanów, jak również fukozy wchodzącej w skład glikotopów Lewis<sup>x</sup> i Lewis<sup>a</sup>. Autorzy sugerują, że wzrost fukozytacji może być spowodowany bezpośrednią, miejscową syntezą fukozylowanej haptoglobiny przez komórki raka trzustki lub synteza przebiega w wątrobie, ale jest indukowana przez czynniki wytwarzane przez komórki raka trzustki [31].

Powyższe osiągnięcia próbuje się częściowo wprowadzać do diagnostyki laboratoryjnej. Na świecie, już od ponad 20 lat, oznacza się rutynowo struktury pokrewne antygenom sjalo-Lewis<sup>x</sup> i sjalo-Lewis<sup>a</sup> w surowicy pacjentów jako antygen CA19-9 oraz antygen CEA (carcino-embryonic antigen) przy zastosowaniu przeciwciał monoklonalnych, np. przeciwciała monoklonalne linii N19-9, SPan-1, KMO1 dla glikotopu sjalo-Lewis<sup>a</sup> oraz przeciwciała monoklonalne linii CSLEX-1, NCC-ST-439, FH6 dla glikotopu sjalo-Lewis<sup>x</sup> [19]. Oznaczenia fukozytacji można również wykonywać z zastosowaniem lektyn swoście rozpoznających fukozę oraz sposób jej przyłączenia do łańcucha oligosacharydowego glikoprotein. Taketa i wsp. [45] opracowali diagnostyczny test oparty na reaktywności  $\alpha$ -fetoproteiny (AFP) z lektyną LCA (swoście rozpoznającą Fuc przyłączoną wiązaniem  $\alpha$ 1,6 do GlcNAc), pozwalającą na rozróżnienie między pacjentami z nienowotworowymi chorobami wątroby a rakiem wątroby (tzw. frakcja AFP-L3). Dodatkowo, wzrost frakcji AFP-L3 jest powiązany ze złym rokowaniem pacjentów z rakiem wątroby.

### Znaczenie fukozytacji glikanów w oddziaływaniach z mikroorganizmami

Antygeny cukrowe zawierające fukozę odgrywają ważną rolę w oddziaływaniach z komórkami bakterii. Patogenne i niepatogenne drobnoustroje mogą zasiedlać komórki organizmu gospodarza dzięki rozpoznaniu cząsteczki fukozy wchodzącej w skład glikotopu glikokoniugatów komórek gospodarza. Proces zachodzi dzięki obecności na powierzchni komórki bakteryjnej receptorów lektynowych, wykazujących zdolność rozpoznawania i swoistego wiązania określonych glikotopów, rozpoczynając adhezję czynnika patogenego na błonie komórkowej gospodarza [25].

Przykładem może być patogenna bakteria *Helicobacter pylori*, główny etiologiczny czynnik odpowiedzialny za powstawanie wrzodów żołądka. Wiązanie się tych komórek bakteryjnych odbywa się dzięki zdolności do wiązania przez lektyny bakteryjne struktur Lewis<sup>b</sup> (zawierających fukozę związaną  $\alpha$ 1,2 i  $\alpha$ 1,4) obecnych na powierzchni komórek nabłonkowych żołądka. Dodatkowo, *Helicobacter pylori* ma na swojej powierzchni analogi struktury Lewis<sup>x</sup>, Lewis<sup>y</sup> i Lewis<sup>b</sup> przyłączone do lipopolisacharydu, które są podobne do glikokoniugatów błonowych ludzkich komórek, co indukuje wytwarzanie autoprzeciwciał. W wyniku tego

procesu, u chorych zakażonych *Helicobacter pylori*, dochodzi do uszkodzenia śluzówki żołądka, co z kolei prowadzi do przewlekłego stanu zapalnego żołądka [16,25]. Najnowsze badania Nilssona i wsp. [29] wykazały, że ekspresja antygenów typu Lewis na powierzchni komórek *Helicobacter pylori* ulega zmianom w zależności od stadium choroby oraz miejsca występowania w ludzkim żołądku.

Do rozpoznania opartego na reakcji lektyna-fukoza dochodzi także w procesach fizjologicznych. Badania przeprowadzone u szczurów wykazały wzrost ekspresji glikotopów zawierających fukozę związaną  $\alpha$ 1,2 na komórkach nabłonka jelit młodych zwierząt przestawiających się z pokarmu matki na pokarm stały. Wykazano, że ekspresja genu  $\alpha$ 1,2-fukozylotransferazy, a w konsekwencji  $\alpha$ 1,2-fukozyloowanych glikanów jest zależna od obecności prawidłowej jelitowej mikroflory bakteryjnej, a dokładnie od kolonizacji przez *Bacteroides thetaiotaomicron*. System kontrolowania ekspresji fukozy na nabłonku funkcjonuje dzięki obecności na powierzchni *Bacteroides thetaiotaomicron* białka rozpoznającego fukozę, co uruchamia mechanizm indukujący ekspresję fukozyloowanych glikanów na powierzchni komórek jelita gospodarza [16].

Struktury typu Lewis, stanowiące ligandy selektyń, mogą mieć również wpływ na rozwój wielu innych procesów patologicznych, m.in. miażdżycy tętnic, chorób zapalnych skóry i astmy [2,44].

### PODSUMOWANIE

Ze względu na budowę chemiczną, konfigurację L oraz obecność fragmentu hydrofobowego i hydrofilowego, fukoza znajduje się w centrum zainteresowań glikobiologów. W zależności od typu wiązania fukozy w komponencie cukrowej glikokoniugatów przypisuje się jej pełnienie odmiennej roli w procesach biologicznych. Stopień fukozytacji i/lub sposób jej przyłączenia do struktur cukrowych ulega dynamicznym zmianom w zależności od stanu patofizjologicznego organizmu. Biorąc pod uwagę to, że fukoza wchodząca w skład antygenów typu Lewis, jest składową ligandów dla wielu lektyn komórkowych sugeruje się jej modulującą rolę w oddziaływaniach między komórkami oraz między komórką i macierzą zewnątrzkomórkową. W świetle ostatnich doniesień wydaje się, że fukoza może odgrywać znaczącą rolę w molekularnym mechanizmie regulującym wzrost komórek oraz ich różnicowanie, co jest szczególnie widoczne w procesie organogenezy i transformacji nowotworowej. Wszelkie zmiany w ekspresji fukozy, zarówno na glikokoniugatach błonowych jak i rozpuszczalnych, mogą prowadzić do zaburzeń w przekazywaniu sygnałów i komunikacji między komórkami oraz wpływać na metabolizm glikoprotein syntetyzowanych w wątrobie. W perspektywie rozważane jest zastosowanie cząsteczek zawierających fukozę jako potencjalnych inhibitorów selektyń w terapii chorób nowotworowych. Niemniej jednak znaczna część procesów biologicznych, w których uczestniczy fukoza nadal czeka na wyjaśnienie.

### PODZIĘKOWANIE

Składam serdeczne podziękowania pani prof. dr hab. Iwonie Kątnik-Prastowskiej za cenne uwagi podczas przygotowywania manuskryptu.



## PIŚMIENICTWO

- [1] Ashwell G., Harford J.: Carbohydrate-specific receptors of the liver. *Annu. Rev. Biochem.*, 1982, 51: 531–554
- [2] Becker D.J., Lowe J.B.: Fucose: biosynthesis and biological function in mammals. *Glycobiology*, 2003; 13: 41R–53R
- [3] Becker D.J., Lowe J.B.: Leukocyte adhesion deficiency type II. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999; 1455: 193–204
- [4] Best T., Kemps E., Bryan J.: Effects of saccharides on brain function and cognitive performance. *Nutr. Rev.*, 2005; 63: 409–418
- [5] Chalabi S., Easton R.L., Patankar M.S., Lattanzio F.A., Morrison J.C., Panico M., Morris H.R., Dell A., Clark G.F.: The expression of free oligosaccharides in human seminal plasma. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 32562–32570
- [6] Delmotte P., Degroote S., Merten M., Bernigaud A., Van Seuningen I., Figarella C., Roussel P., Perini J.M.: Influence of culture conditions on the alpha 1,2-fucosyltransferase and MUC gene expression of a transformed cell line MM-39 derived from human tracheal gland cells. *Biochimie*, 2001; 83: 749–755
- [7] Fenderson B.A., Eddy E.M., Hakomori S.: Glycoconjugate expression during embryogenesis and its biological significance. *Bioessays*, 1990; 12: 173–179
- [8] Ferens-Sieczkowska M., Kossowska B.: Haptoglobin fucosylation in ascites fluids of ovarian cancer patients. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2004; 13: 581–587
- [9] Franz S., Frey B., Sheriff A., Gaipl U.S., Beer A., Voll R.E., Kalden J.R., Herrmann M.: Lectins detect changes of the glycosylation status of plasma membrane constituents during late apoptosis. *Cytometry A*, 2006; 69A: 230–239
- [10] Freeze H.H.: Genetic defects in the human glycome. *Nat. Rev. Genet.*, 2006; 7: 537–551
- [11] Gornik I., Maravic G., Dumic J., Fogel M., Lauc G.: Fucosylation of IgG heavy chains is increased in rheumatoid arthritis. *Clin. Biochem.*, 1999; 32: 605–608
- [12] Haltiwanger R.S., Lowe J.B.: Role of glycosylation in development. *Annu. Rev. Biochem.*, 2004; 73: 491–537
- [13] Harris R.J., Ling V.T., Spellman M.W.: O-linked fucose is present in the first epidermal growth factor domain of factor XII but not protein C. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 5102–5107
- [14] Hart G.W.: Sweet insights into learning and memory. *Nat. Chem. Biol.*, 2006; 2: 67–68
- [15] Hirnle L., Kątnik-Prastowska I.: Amniotic fibronectin fragmentation and expression of its domains, sialyl and fucosyl glycotopes associated with pregnancy complicated by intrauterine infection. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2007; 45: 208–214
- [16] Hooper L.V., Gordon J.I.: Glycans as legislators of host-microbial interactions: spanning the spectrum from symbiosis to pathogenicity. *Glycobiology*, 2001; 11: 1R–10R
- [17] Ichikawa D., Handa K., Hakomori S.: Histo-blood group A/B antigen deletion/reduction vs. continuous expression in human tumor cells as correlated with their malignancy. *Int. J. Cancer*, 1998; 76: 284–289
- [18] Jeschke U., Wang X., Briese V., Friese K., Stahn R.: Glycodelin and amniotic fluid transferrin as inhibitors of E-selectin-mediated cell adhesion. *Histochem. Cell Biol.*, 2003; 119: 345–354
- [19] Kannagi R., Izawa M., Koike T., Miyazaki K., Kimura N.: Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis. *Cancer Sci.*, 2004; 95: 377–384
- [20] Kątnik I., Goodarzi M.T., Turner G.A.: An improved ELISA for the determination of sialyl Lewis(x) structures on purified glycoconjugates. *Glycoconj. J.*, 1996; 13: 1043–1047
- [21] Kim Y.J., Varki A.: Perspectives on the significance of altered glycosylation of glycoproteins in cancer. *Glycoconj. J.*, 1997; 14: 569–576
- [22] Kossowska B., Ferens-Sieczkowska M., Gancarz R., Passowicz-Muszyńska E., Jankowska R.: Fucosylation of serum glycoproteins in lung cancer patients. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 2005; 43: 361–369
- [23] Lenoir D., Ruggiero-Lopez D., Louisot P., Biol M.C.: Developmental changes in intestinal glycosylation: nutrition-dependent multi-factor regulation of the fucosylation pathway at weaning time. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995; 1234: 29–36
- [24] Luo Y., Nita-Lazar A., Haltiwanger R.S.: Two distinct pathways for O-fucosylation of epidermal growth factor-like or thrombospondin type 1 repeats. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 9385–9392
- [25] Ma B., Simala-Grant J.L., Taylor D.E.: Fucosylation in prokaryotes and eukaryotes. *Glycobiology*, 2006; 16: 158R–184R
- [26] Manya H., Sato Y., Eguchi N., Seiki K., Oda H., Nakajima H., Urade Y., Endo T.: Comparative study of the asparagine-linked sugar chains of human lipocalin-type prostaglandin D synthase purified from urine and amniotic fluid, and recombinantly expressed in Chinese hamster ovary cells. *J. Biochem.*, 2000; 127: 1001–1011
- [27] Nakagawa T., Uozumi N., Nakano M., Mizuno-Horikawa Y., Okuyama N., Taguchi T., Gu J., Kondo A., Taniguchi N., Miyoshi E.: Fucosylation of N-glycans regulates the secretion of hepatic glycoproteins into bile ducts. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 29797–29806
- [28] Nemansky M., Thotakura N.R., Lyons C.D., Ye S., Reinhold B.B., Reinhold V.N., Blithe D.L.: Developmental changes in the glycosylation of glycoprotein hormone free  $\alpha$  subunit during pregnancy. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 12068–12076
- [29] Nilsson C., Skoglund A., Moran A.P., Annuk H., Engstrand L., Normark S.: An enzymatic ruler modulates Lewis antigen glycosylation of *Helicobacter pylori* LPS during persistent infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006; 103: 2863–2868
- [30] Niwa R., Natsume A., Uehara A., Wakitani M., Iida S., Uchida K., Satoh M., Shitara K.: IgG subclass-independent improvement of antibody-dependent cellular cytotoxicity by fucose removal from Asn297-linked oligosaccharides. *J. Immunol. Methods*, 2005; 306: 151–160
- [31] Okuyama N., Ide Y., Nakano M., Nakagawa T., Yamanaka K., Moriwaki K., Murata K., Ohigashi H., Yokoyama S., Eguchi H., Ishikawa O., Ito T., Kato M., Kasahara A., Kawano S., Gu J., Taniguchi N., Miyoshi E.: Fucosylated haptoglobin is a novel marker for pancreatic cancer: a detailed analysis of the oligosaccharide structure and a possible mechanism for fucosylation. *Int. J. Cancer*, 2006; 118: 2803–2808
- [32] Orczyk-Pawilowicz M., Floriański J., Zalewski J., Kątnik-Prastowska I.: Relative amounts of sialic acid and fucose of amniotic fluid glycoconjugates in relation to pregnancy age. *Glycoconj. J.*, 2005; 22: 433–442
- [33] Orczyk-Pawilowicz M., Hirnle L., Floriański J.: Zmiany w sializacji i fukozytacji glikokoniugatów w ciążach powikłanych przedwczesnym odpływaniem płynu owodniowego. *Adv. Clin. Exp. Med.*, 2005; 14: 51–57
- [34] Orntoft T.F., Vestergaard E.M.: Clinical aspects of altered glycosylation of glycoproteins in cancer. *Electrophoresis*, 1999; 20: 362–371
- [35] Peterszegi G., Fodil-Bourahla I., Robert A.M., Robert L.: Pharmacological properties of fucose. Applications in age-related modifications of connective tissues. *Biomed. Pharmacother.*, 2003; 57: 240–245
- [36] Reuser A.J., Kroos M.A., Visser W.J., Willemsen R.: Lysosomal storage diseases: cellular pathology, clinical and genetic heterogeneity, therapy. *Ann. Biol. Clin.*, 1994; 52: 721–728
- [37] Russel L., Waring P., Beaver J.P.: Increased cell surface exposure of fucose residues is a late event in apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 250: 449–453
- [38] Ryden I., Pahlsson P., Lundblad A., Skogh T.: Fucosylation of  $\alpha$ 1-acid glycoprotein (orosomucoid) compared with traditional biochemical markers of inflammation in recent onset rheumatoid arthritis. *Clin. Chim. Acta*, 2002; 317: 221–229
- [39] Sathish Kumar N., Eapen C.E., Jeyamani R., Balasubramanian K.A.: Serum and urinary fucose concentrations in hepatitis B-related cirrhosis and acute liver diseases. *Clin. Chim. Acta*, 2004; 342: 233–235
- [40] Scanlin T.F., Glick M.C.: Terminal glycosylation in cystic fibrosis. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999; 1455: 241–253
- [41] Shields R.L., Lai J., Keck R., O'Connell L.Y., Hong K., Meng Y.G., Weikert S.H., Presta L.G.: Lack of fucose on human IgG<sub>1</sub> N-linked oligosaccharide improves binding to human Fc $\gamma$ RIII and antibody-dependent cellular toxicity. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 26733–26740
- [42] Sinowatz F., Plendl J., Kollé S.: Protein-carbohydrate interactions during fertilization. *Acta Anat.*, 1998; 161: 196–205
- [43] Smithson G., Rogers C.E., Smith P.L., Scheidegger E.P., Petryniak B., Myers J.T., Kim D.S., Homeister J.W., Lowe J.B.: Fuc-TVII is required for T helper 1 and T cytotoxic 1 lymphocyte selectin ligand expression and recruitment in inflammation, and together with Fuc-TIV regulates naive T cell trafficking to lymph nodes. *J. Exp. Med.*, 2001; 194: 601–614
- [44] Staudacher E., Altmann F., Wilson I.B., März L.: Fucose in N-glycans: from plant to man. *Biochim. Biophys. Acta*, 1999; 1473: 216–236

- [45] Taketa K., Endo Y., Sekiya C., Tanikawa K., Koji T., Taga H., Satomura S., Matsuura S., Kawai T., Hirai H.: A collaborative study for the evaluation of lectin-reactive alpha-fetoproteins in early detection of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res.*, 1993; 53: 5419–5423
- [46] Van Dijk W., Brinkman-Van der Linden E.C., Havenaar E.C.: Occurrence and possible function of inflammation-induced expression of sialyl Lewis-x on acute-phase proteins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1998; 435: 145–150
- [47] Van Rooijen J.J., Jeschke U., Kamerling J.P., Vliegenthart J.F.: Expression of N-linked sialyl Le(x) determinants and O-glycans in the carbohydrate moiety of human amniotic fluid transferrin during pregnancy. *Glycobiology*, 1998; 8: 1053–1064
- [48] Vestweber D., Blanks J.E.: Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol. Rev.*, 1999; 79: 181–213
- [49] Wang X., Gu J.G., Ihara H., Miyoshi E., Honke K., Taniguchi N.: Core fucosylation regulates epidermal growth factor receptor-mediated intracellular signaling. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 2572–2577
- [50] Wang X., Inoue S., Gu J., Miyoshi E., Noda K., Li W., Mizuno-Horikawa Y., Nakano M., Asahi M., Takahashi M., Uozumi N., Ihara S., Lee S.H., Ikeda Y., Yamaguchi Y., Aze Y., Tomiyama Y., Fujii J., Suzuki K., Kondo A., Shapiro S.D., Lopez-Otin C., Kuwaki T., Okabe M., Honke K., Taniguchi N.: Dysregulation of TGF- $\beta$ 1 receptor activation leads to abnormal lung development and emphysema-like phenotype in core fucose-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 15791–15796
- [51] Weninger W., Ulfman L.H., Cheng G., Souchkova N., Quackenbush E.J., Lowe J.B., von Andrian U.H.: Specialized contributions by  $\alpha$ (1,3)-fucosyltransferase-IV and FucT-VII during leukocyte rolling in dermal microvessels. *Immunity*, 2000; 12: 665–676
- [52] Witz I.P.: The involvement of selectins and their ligands in tumor-progression. *Immunol. Lett.*, 2006; 104: 89–93
- [53] Yamamoto R., Azuma M., Wakui Y., Kishida T., Yamada H., Okuyama K., Sagawa T., Shimizu K., Satomura S., Fujimoto S.: Alpha-fetoprotein microheterogeneity: a potential biochemical marker for Down's syndrome. *Clin. Chim. Acta*, 2001; 304: 137–141

