

Гликобиология – науката, в която въглехидратите оживяват

Йордан Георгиев

Терминът гликобиология е въведен през 1988 г. от английския биохимик Реймънд Двек (Raymond Dwek), който в момента е директор на Институт по гликобиология към Оксфордския университет. Представката „глико“ в думата гликобиология има гръцки произход (от *γλυκός*) и означава „сладък“, като тя подсказва, че става въпрос за биологията на най-разпространените молекули със сладък вкус или по-точно – на въглехидратите.

По исторически причини тези съединения се приемат за сладки, тъй като се свързват с най-известния въглехидрат – глюкозата, която има сладък вкус, но не всички

представители са сладки. Въглехидратите (наричани още гликани или захари) по определение са хидрати на въглерода, който заема централно място в изграждането на структурата на молекулите в организмите на нашата планета. Например монозахаридите рибоза и дезоксирибоза са неделима част от ДНК и РНК, а полизахаридите целулоза (растения) и хитин (плесени, гъби, насекоми, членестоноги) са най-разпространените молекули на Земята. В гликобиологията се изучават структурата, биосинтезът и функциите на гликаните в организмите, както и въобще на всички

съединения, които се съдържат в тях (гликопротеини, протеоглики, гликолипиди, фенолни гликозиди и др.). Тя е дял от молекулярната биология, който обединява знанията

на традиционни дисциплини като органична химия, биохимия и имунология с цел изучаване на живата клетка.

Появата на идеята за гликобиологията е резултат от многогодишния труд на плеяда от блестящи учени по цял свят, като някои от тях дори са били удостоени с Нобелова награда. Изключително важно значение за разбирането на структурната организация на въглехидратите и аминокиселините и техните производни има откриването на явлението оптична изомерия от френския учен Луи Пастър (Louis Pasteur, 1822 – 1895), което спомага за развитие-

то на стереохимията. Гликаните имат множество хидроксилни групи (-ОН) в техните молекули и благодарение на оптичната изомерия е възможно да се определи точното им разположение в пространството. Разбирането на това явление позволява да бъде



Опростен модел на животинска клетка

различена глюкоза от нейния изомер (епимер) галактоза. Възможно е също така да се разграничат биогенните изомери на аминокиселините (α -L-аминокиселините), които изграждат нашите белтъци от изомерите, които не изграждат белтъците и имат други функции или са продукт на органичния синтез. Пространствените изомери могат да се различават по своите физикохимични свойства, като вкус и мирис, както и по своята физиологична активност. Монозахаридите глюкоза и фруктоза образуват дисахарида захароза или това е трапезната захар, а глюкозата и галактозата изграждат млечната захар, наречена лактоза. Според своята степен на сладост споменатите захар

и могат да бъдат подредени в следния ред: фруктоза>захароза> глюкоза>галактоза>лактоза.

За периода 1901 – 2019 г. Нобелова награда по химия е била присъдена 111 пъти на 183 учени, като няколко пъти отличията са били за открития, посветени на въглехидратите. Блестящият немски учен Емил Фишер (Emil Fischer, 1852 – 1919) е бил награден през 1902 г. за своя принос в изясняване структурата на глюкозата (1891 г.) и на други монозахариди, както и за работата му върху пурините. Нобелов лауреат през 1907 г. е Едуард Бухнер (Eduard Buchner, 1860 – 1917), който установява, че екстракт от умъртвени дрожди може да превръща захарта в алкохол, което го



Луи Пастьор



Емил Фишер

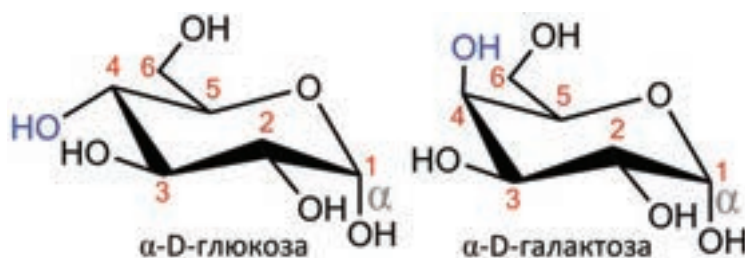


Ханс Кребс



Едуард Шарний

Портрети на известни учени с принос за въглехидратната химия и биохимия



Структура на изомерите (епимери) α -D-глюкоза и α -D-галактоза

този момент се е смятало за невъзможно без живи клетки. Бухнер показва, че екстрактът съдържа ензими – биокатализаторите, които участват в химичните процеси в нашето тяло. Ензимите са молекули, без които е невъзможно съществуването на живота на нашата планета. Това откритие внася светлина върху алкохолната ферментация на въглехидратите, която лежи в основата на производството на хляб, пиво, вино и гр. Сър Уолтър Хауърт (Walter Haworth, 1883 – 1950) получава половината от Нобеловата награда през 1937 г. за установяването на структурата на редица захари (напр. лактоза) и тази на витамин С. През 1953 г. Херман Стаудингер (Hermann Staudinger, 1881 – 1965) е награден за своите изследвания върху макромолекулите и по-конкретно за определянето на полимерната структура на целулозата, която е основният полизахарид в растителната клетъчна стена. По-късно Луи Лелоар (Luis Leloir, 1906 – 1987) е бил награден през 1970 г. за своята работа върху нуклеотидите и тяхната роля при биосинтеза на въглехидратите.

За периода 1901 – 2019 г. Нобелова награда по физиология или медицина е била присъдена 111 пъти на 219 изявени учени, като и тук не липсват отличия, посветени на гликаните. За да получи енергия, тялото ни трябва да може да окислява най-важния въглехидрат – глю-

козата. През 1922 г. биохимикът Ото Майерхоф (Otto Meyerhof, 1884 – 1951) получава половината от Нобеловата награда за своите изследвания върху метаболизма на глюкозата в ор-

ганизма. Неговата работа е доразвита от Густав Ембден (Gustav Embden, 1874 – 1933), който предлага известния и до наши дни гликолитичен път за разграждане на глюкозата в живата клетка. Гликолизата е най-древният метаболитен път за извличане на енергия от глюкозата, използван при еволюционното развитие от едноклетъчните до многоклетъчните организми. За развитието на ендокринологията голямо значение има откриването на хормона инсулин, който регулира нивото на кръвната глюкоза. През 1916 г. физиологът Сър Едуард Шарпий-Счафър (Edward Sharpe-Schafer, 1850 – 1935) предполага, че Лангерхансовите острови на панкреаса са отговорни за ефекта на този орган върху кръвната глюкоза. През 1921 г. Фредерик Бантинг (Frederick Banting, 1891 – 1941), заедно с Джон Маклауд (John Macleod, 1876 – 1935), успяват да получат екстракт, съдържащ инсулин и да докажат неговата ефикасност като третират болен от диабет и затова получават Нобелова награда (1923 г.). През 1947 г. половината от Нобеловата награда е присъдена на съпрузите биохимици Карл Кори (Carl Cori, 1896 – 1984) и Гърти Кори (Gerty Cori, 1896 – 1957) за изследванията им върху метаболизма на гликоген. Това съединение е основният резервен полизахарид в нашето тяло, който е изграден от глюкоза и може да служи като източник на енергия, докато работим или

дори по време на сън. Най-важният метаболитен път за получаване на енергия при човека и всички останали аеробни организми от крайното окисление на основните хранителни вещества: въглехидрати, липиди и белтъци е цикълът на Кребс. Той е изучен в завършен вид от лекаря Сър Ханс Кребс (Hans Krebs, 1900 – 1981), за което натурализираният британски учен получава и половината от Нобеловата награда за физиология и медицина през 1953 г. Любопитен факт е, че Кребс първоначално изпраща ръкопис на цикъла до редакцията на престижното списание *Nature*, където не е проявен интерес към неговата работа и тя е отхвърлена. Съвсем скоро той публикува статията си в холандското списание *Enzymologia*, което остава в историята като публикувало най-известния метаболитен път. През 1994 г. Алфред Гилман (Alfred Gilman, 1941 – 2015) печели половината от Нобеловата награда за откриването на G-белтъците, които служат за предаване на информация от околната среда вътре в клетката. G-белтъците влизат в състава на регулационни рецептори за хормони (напр. адреналин). Голяма част от съвременните лекарства действат през тези рецептори, като е интересно да се отбележи, че те са гликозилирани.

Като оптически активни съединения, богати на хидроксилни групи, въглехидратите притежават най-голямото структурно разнообразие, в сравнение с всички останали класове молекули в живата природа. Те се срещат във вид на по-прости структури, като монозахариди и дизахариди, а по-сложно устроените са линейни и/или разклонени олигозахариди и полизахариди. За да се илюстрира колко сложни могат да бъдат гликаните, ще бъде даден следният пример. Четири аминокиселини или четири



Д-р инж. Йордан Георгиев е постдокторант и главен асистент в Институт по органична химия с Център по фитохимия към БАН и хоноруван преподавател по биохимия в Медицински университет – Пловдив. Изследванията му са в областта на фитохимията, фармакогнозията, биохимията и диететиката. Работи по проект на Национална програма „Млади учени и постдокторанти“.

нуклеотиди от ДНК могат да образуват 24 различни тетрапептида или тетра-нуклеотиди, но четири хексози (монозахарид от типа на глюкозата, съставен от 6 въглеродни атома) могат да дадат 35 560 уникални тетразахариди. Това структурно разнообразие предполага и разлика във физиологичните функции на изомерите. Ето защо гликобиологията представлява една необятна област за изследване. Важно е да се отбележи обаче, че въглехидратите не се кодират директно в ДНК за разлика от белтъците. Всеки клетъчен гликом се определя от експресията на гените, отговорни за биосинтеза на въглехидрати, като това включва гените, кодиращи ензимите гликозилтрансферази, гликозидази, ензи-



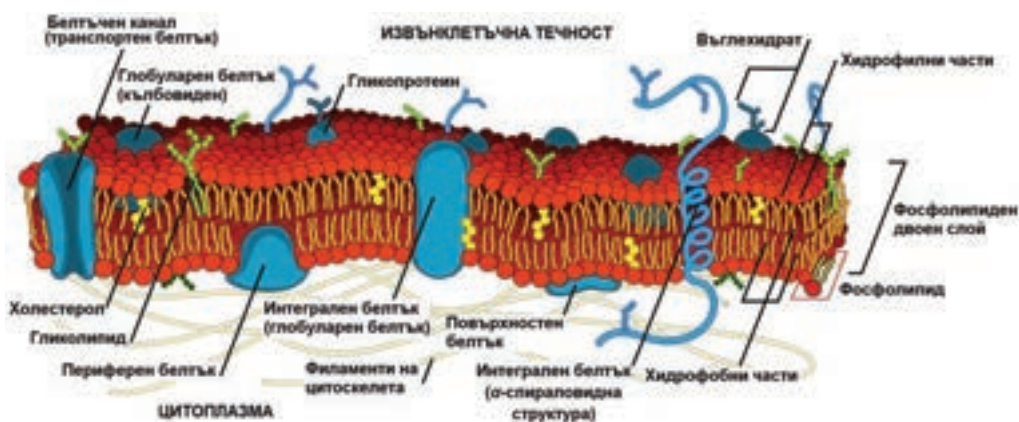
Схематично представяне на N- и O-гликозилиране при белтъци

мите за получаване на предшественици на възлехидратния синтез и преносители, които заедно съставляват повече от 3% от всички човешки гени.

Наред със синтезирането на гликаните като свободни ди-, олиго- и полизахариди, те могат да бъдат химически прикрепени към белтъци и липиди, образувайки гликоконюгати. Най-често срещаните монозахариди в животинските възлехидрати са фукроза, галактоза, глюкоза, маноза, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин, сialова киселина и ксилоза. Гликаните биват N-свързани, когато те образуват ковалентна връзка с азотния атом от $-CONH_2$ групата на аминокиселината аспарагин и O-свързани, когато са закачени за $-OH$ групата на аминокиселините серин или треонин. Повече от 50% от човешките белтъци са гликозилирани, като най-малко 10% от генома участва в гликозилирането. Най-общо гликозилираните белтъци се срещат по клетъчните повърхности, в цитоплазмата, ядрото и други органи. Например, добавянето на N-ацетилглюкозамин към хистонови белтъци,

обграждащи хромозомната ДНК, е ключов елемент, който регулира генната експресия. МСР е специфично гликозилиран белтък от плацентата, който предпазва трофобласта от системата на комплемента на майката, по този начин фетусът не се отхвърля и може да се развива. Майчиното мляко е богато на

гликопротеини и свободни олигозахариди. Установено е, че млечните гликани, особено богатите на сialова киселина, допринасят за развитието на мозъка на новороденото. Иммуноглобулин G (IgG) е едно от най-важните оръжия в нашия арсенал, което ни позволява да се борим успешно с микроорганизмите. Гликозилирането на IgG обуславя възможността му да се свързва към рецепторите на имунните клетки, предизвиквайки антияло-зависима клетъчна цитотоксичност, водеща до разрушаване на прицелни патогени. Гликозилирането на Notch белтъка е жизненоважно за ембрионалното развитие и на индивида. Муцините по епитела на кухите органи също са гликозилирани, като те осигуряват ефективно смазване на повърхностите и помагат за поглъщането и придвижването на храната в хранопровода. През септември 2019 г. беше публикувана научна статия в списание *bioRxiv* (на бълг. „Биоархив“) от екипа на проф. Каролън Бертози (Carolyn Bertozzi) от Станфордски университет в САЩ, в която се съобщава, че е намерено за



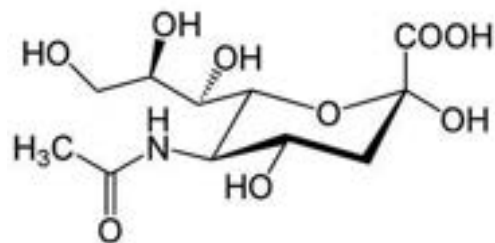
Моделна структура на клетъчна мембрана на животинска клетка

първи път гликозилиране (със сиалови киселини) и на РНК. Учените са открили, че гликозилираните РНК-и съдържат некодиращи области, които се разпознават от антитела, характерни за автоимунни състояния. Това изследване за пореден път разбива класическото схващане за функциите на нуклеиновите киселини, белтъците и гликаните.

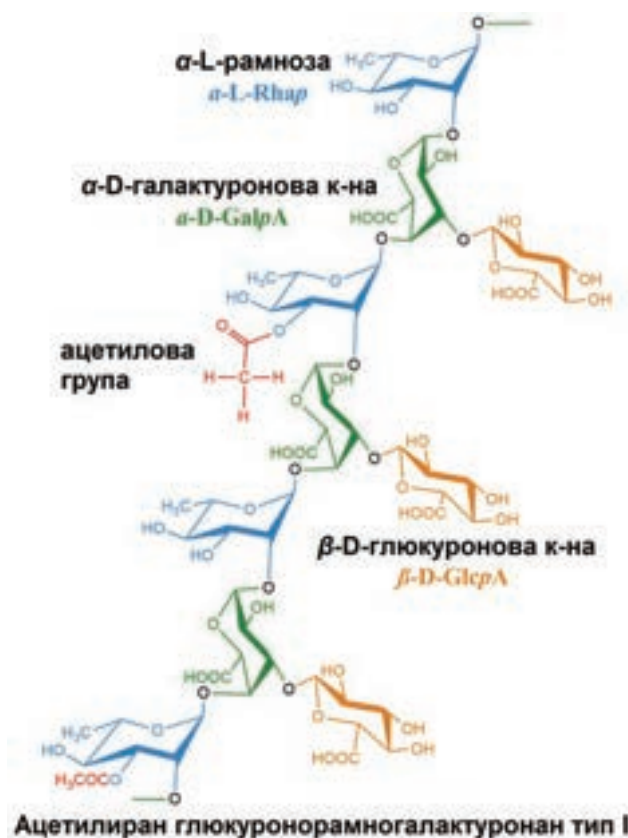
Повърхността на всички еукариотни клетки е покрита с дебел слой сложни гликопротеини и гликолипиди, който при бозайниците се нарича гликокаликс. Много клетки в нашия организъм могат да функционират без ядро (напр. еритроцити), но не са известни клетки, които могат да съществуват без гликани върху тяхната повърхност. Всичко, което доближава клетката, било то протеин, друга клетка или микроорганизъм трябва да взаимодейства с клетъчната гликанова обвивка. Разпознаването на въглекидратната част в гликоконюгатите се осъществява от специални свързващи белтъци, наречени лектини (от лат. *lect* – избран). Лектините се експресират върху всички видове имунни клетки, изпълняват разнообразие от регулаторни роли в левкоцитното

общуване, разпознаване на патогени, обработка на антигени, активиране и потискане на имунната система. Познаването на лектините ни позволява да обясняваме както физиологичните процеси, така и процесите в патология и да създаваме лекарства.

Гликаните играят значителна роля при взаимодействието между различните организми, включвайки оплождането и взаимодействия от типа патоген – гостоприемник или между симбионти (напр. човека и пробиотичните бактерии). При бозайниците в тези процеси основна роля имат сиаловите киселини, които са най-големите и структурно



Структура на представител от групата на сиаловите киселини (N-ацетилневраминовата киселина)



Структура на растителен полизахарид с имуномодулиращо действие

най-сложните монозахариди при нас. Сперматозоидите на бозайниците са маскирани със сialiрани захари, за да се предотврати разпознаването им като чужди клетки от женската репродуктивна система. След успешната адаптация на сперматозоидите към новата среда, отстраняването на остатъците от сialова киселина от повърхностните им гликани е необходимо в процеса на съзряване на сперматозоидите и установяване на взаимодействие между тях и яйцеклетката. При попадане на грипния вирус в дихателните пътища на човек той разпознава рецептори по повърхността на епитела, които съдър-

жат сialови киселини и се закрепва за тях посредством своя гликопротеин хемаглютинин. След това вирусът прониква в клетката и се размножава, като за освобождаването на вирионите от заразените клетки и разпространението на вируса той използва ензимът сialiдаза. Този ензим освобождава сialовите киселини от вирусните частици и по този начин те могат да се свържат към рецептори на други клетки. Познаването на тези процеси е позволило разработването на лекарства аналози на сialовите киселини, които инхибират действието на сialiдазата. Наскоро беше установено, че вирусните хемаглютинини могат да разпознават и да се закрепват и към фосфорилирани гликани, които не съдържат сialова киселина. Вирусите на ХИВ и херпес симплекс проникват в клетката чрез свои гликоп-

ротеини, които разпознават протеогликана хепаран сулфат, който се намира на повърхността на клетката.

Една от важните стъпки от формирането на многоклетъчния организъм е образуването на извънклетъчния матрикс. Той има структурна функция за организма и участва при клетъчната пролиферация, комуникация, адхезия, оцеляване и миграция. Основните компоненти на матрикса са различни гликопротеини, протеоглици и по-конкретно гликозаминогликаните хиалуронова киселина, хепаран сулфат, хондроитин сулфат, хепарин и др. Хиалуроновата киселина действа като лубрикант в телесни течности,

като синовиална течност в ставните кухини и съзлите на очите. Хепаринът е фармакологично доказан противосъсирващ агент. Аналог на извънклетъчния матрикс при растенията е клетъчната стена, която представлява мрежа от целулоза, хемицелулози, пектин, арабино-галактанови протеини и др.

Отсъствието на гликозилиране има летален ефект още на ембрионално ниво и мутациите, които пречат на правилното гликозилиране, водят до развитие на инвалидизиращи заболявания. Тези промени са свързани с потискане на нормалния синтез на гликани или гликозилиране на белтъци и липиди, или синтез на нови нежелани гликани и нежелано гликозилиране. Промяната в гликозилирането на белтъци и/или липиди се среща при ревматоидни заболявания, Алцхаймер, диабет тип 2, болест на Гоше, шизофрения, ракови заболявания и др. Промяната на захарните вериги при протеогликаните и гликолипидите с възрастта се свързва с със стареенето. В организма се среща също нежелано, неспецифично и неензимно гликиране на белтъци като хемоглобин, храносмилателни ензими, белтъци от очната леща и др., което се наблюдава при диабет. Наскоро беше установено, че нечовешката сиалова киселина Neu5Gc може да се внесе от храната (в частност от червени меса) в определени клетки в тялото, появявайки се по тяхната повърхност. Това се свързва с изострянето на някои болестни състояния, като карциноми и усложнения при атеросклероза след консумацията на червени меса. При различни терапии може да се използва потискане на специфични гликозилтрансферази с нормална или нарушена активност, които са отговорни

за синтеза на гликопротеини. Например, при вирусен хепатит Б е установено, че ако се потисне гликозилирането на гликопротеините от обвивката на вируса се нарушава правилното образуване на капсула и оттам се потиска развитието на инфекцията.

Оказало се, че възлехигратите и гликоконюгатите могат да проявяват биологична активност не само в организма, в който са синтезирани, но и в други организми и дори други видове. Доста често в чуждия организъм се наблюдават съвсем нови свойства. Например установено е, че растителните полизахариди в животните и човека играят ролята на имитиращи антигени. Те имитират микробиалните полизахариди на патогените и в зависимост от здравословното състояние на организма могат да проявяват имуностимулиращо или имунопотискащо действие. Полизахаридите могат да се използват за имуностимулация при инфекциозни и туморни заболявания, а също и за имunosупресия при хронични възпалителни и аутоимунни заболявания. На стр. 76 е представен един необичаен полизахарид, изолиран от нашия екип от българска сребролистна липа, с имуностимулиращ и противовъзпалителен потенциал. Една от основните цели на действащ постдокторантски проект в нашия институт, финансиран от МОН по програма „Млади учени и постдокторанти“, е именно откриването на подобни полизахариди и търсене на начини за тяхното приложение във функционалното и лечебното хранене на човека. Обект на изследване са билката кръвен здравец, ядливата гъба сърнела и цианобактериите *Anabaena laxa*, *Oscillatoria limosa* и *Phormidium molle*. ■