

**SLOŽENI ŠEĆERI KAO
KOMPONENTE VANĆELIJSKOG
MATRIKSA**

Uloga ugljenih hidrata nije ograničena na proizvodnju ili čuvanje energije. Vezani za proteine ili lipide, polimerni ugljeni hidrati grade **proteoglikane, glikoproteine i glikolipide.**

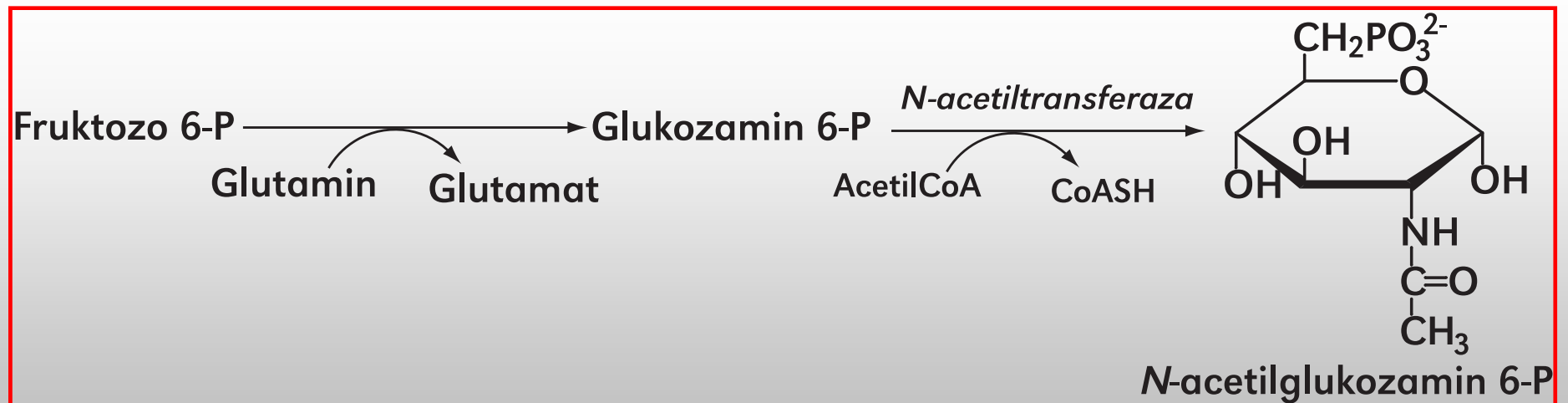
Postoji veoma veliki broj ovih molekula koji imaju značajne i specifične uloge

- u usmeravanju proteina ka membrani,
- definisanju receptorskih mesta na površini ćelije za vezivanje drugih ćelija ili hormona i
- služe kao maziva u zglobovima i molekulska sita.

Osnovni gradivni elementi u sintezi polisaharida su heksoze

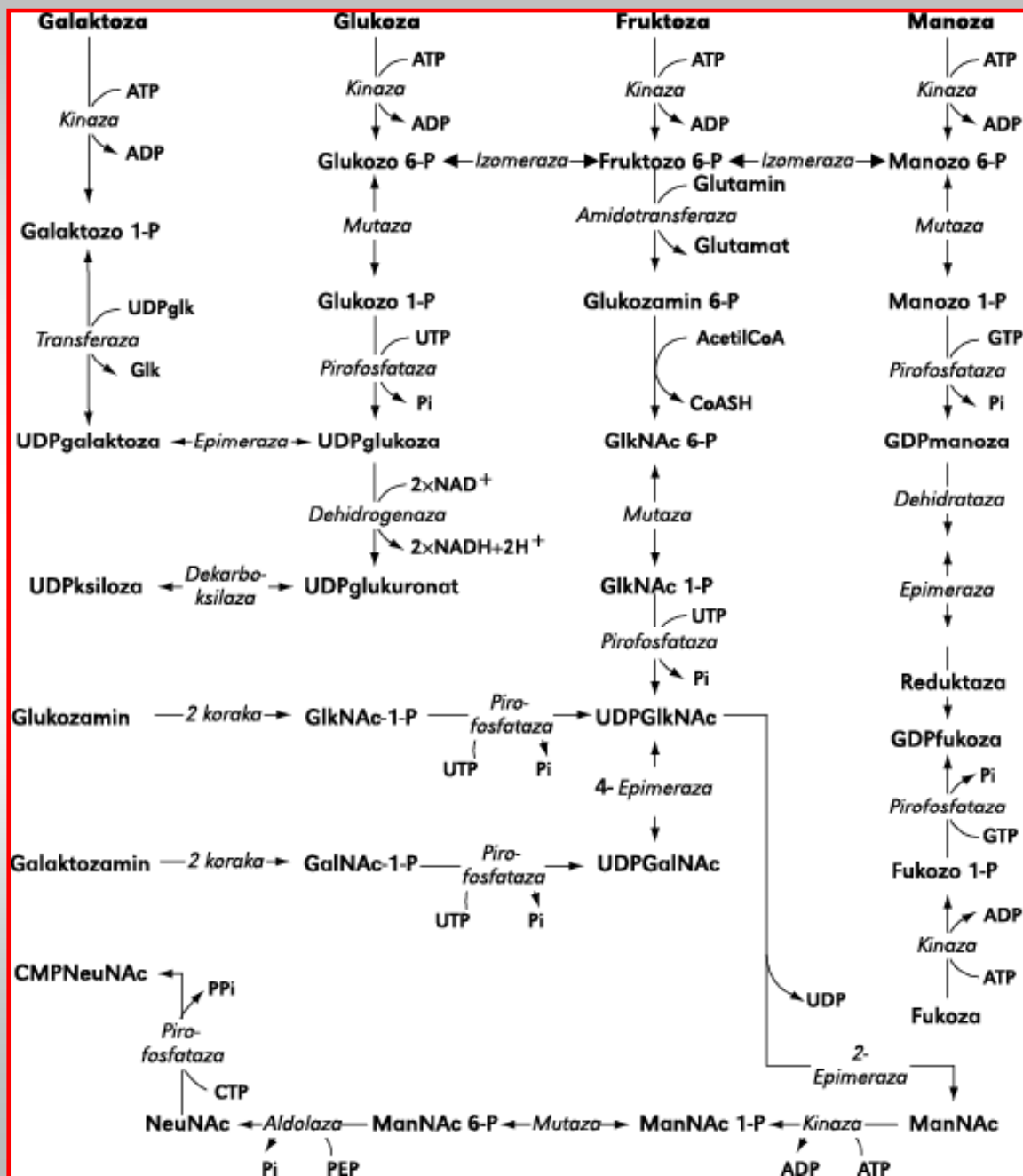
- Osnovni zajednički rezervoar heksoza čine **glukoza, fruktoza i manoza** i ovi šećeri se lako pretvaraju jedan u drugi izomerizacijom na nivou fosforilisanih intermedijata.
- Mnoge modifikacije heksoza, međutim, uključuju promenu postojećih grupa ili vezivanje malih hemijskih grupa za heksozni prsten. Ove izmene (npr. vezivanje *N*-acetil grupe) se daleko najčešće vrše na molekulima pre vezivanja šećera za nukleotid i pre polimerizacije.

- Svi *amino šećeri* - šećeri u kojima je hidroksi grupa na položaju 2 zamenjena NH₂ grupom - se izvode od *glukozamin 6-fosfata*;
- Ovo jedinjenje se sintetise tako što se *amidna grupa* sa glutamina prenese na *fruktozo 6-P*.

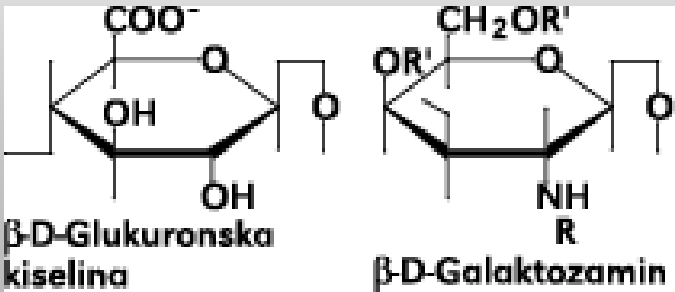
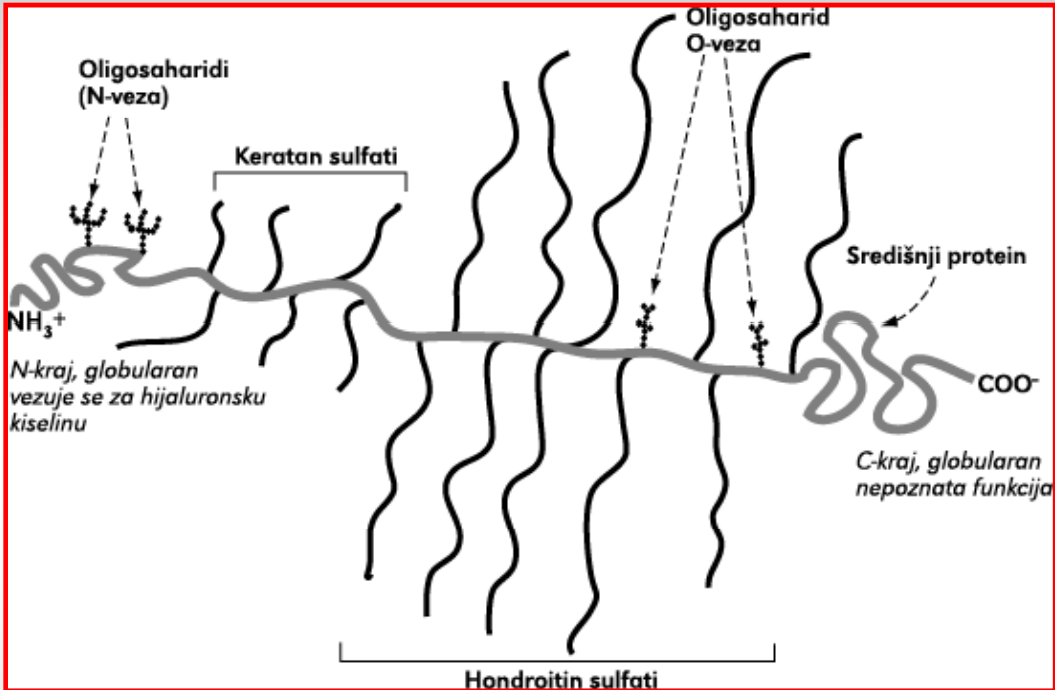


- Stvaranje **glukozamin 6-P** je samo prvi korak u biosintezi čitavog niza jedinjenja, jer se amino šećeri daleko najčešće dalje modifikuju dodavanjem drugih grupa.
- Acetilacijom nastaje *N-acetil-glukozamin 6-fosfat*, koji se prevodi u aktivnu formu, *UDP-N-acetilglukozamin*. Ovo jedinjenje može da bude ugrađeno u polimer, ili da se kroz dalje transformacije prevede u *UDP-N-acetilgalaktozamin* (epimerizacija) ili serijom reakcija u *CMP-N-acetil-glikozaminoglikanima*, a jedinstvena je po tome što nastaje posle ugradnje glukuronske kiseline u molekul glikozaminoglikana.
- **Fukoza** je neophodna za sintezu glikolipida i glikoproteina. Ovi poslednji sadrže i N-acetilneuraminsku kiselinu koja ima veliki negativni elektrostatski naboj dobijen od fosfoenolpiruvata što često određuje i ukupni karakter molekula glikoproteina (ili gangliozida koji takođe sadrže N-acetilneuraminsku kiselinu).

Pretvaranja heksoza jedne u druge i stvaranje derivata šećera



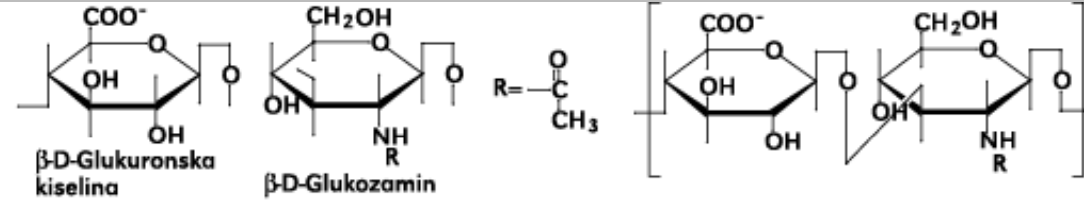
GLIKOZAMINOGLIKANI I PROTEOGLIKANI



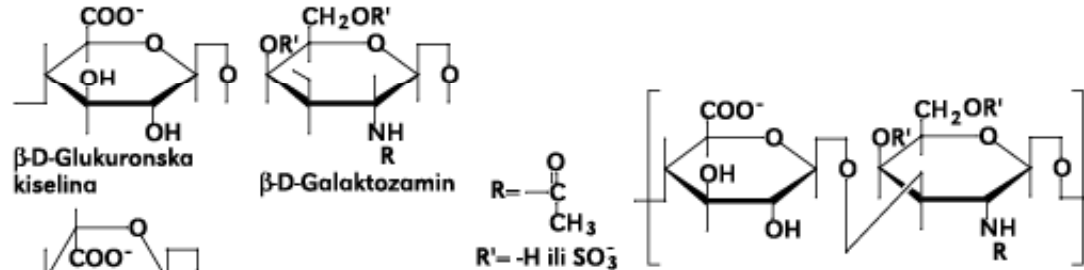
Glikozaminoglikani su nerazgranati polisaharidi koji sadrže disaharidne jedinice koje se ponavljaju

- **Glikozaminoglikani** (GAG; ranije označavani i kao **mukopolisaharidi**) su nerazgranati polisaharidni lanci sačinjeni od disaharidnih jedinica koje se ponavljaju.
- Jedan od šećera je ili **N-acetilglukozamin** ili **N-acetilgalatozamin**.
- Imaju **visok negativan naboj** (česte karboksilne ili sulfatne grupe), što dovodi do toga da polimerni lanci zauzimaju istegnutu konformaciju. Ovo pak uslovljava veliki viskozitet okolne oblasti, te je osnovna uloga GAG da daju vanćelijskom matriksu potrebnu elastičnost pri sabijanju, npr. u hrskavici koja podnosi pritiske i do nekoliko stotina atmosfera.
- Tipičan glikozaminoglikan je **hijaluronska kiselina** koja sadrži preko 10.000 disaharidnih jedinica (N-acetil-glukozamin + glukuronska kiselina), molekulske težine oko 10^7 daltona i dužine do $10\ \mu\text{m}$. Kako hijaluronska kiselina ima negativan naboj, za nju se vezuju voda i katjoni a β -glikozidna veza podržava istegnutu konformaciju.
- Pri niskim koncentracijama hijaluronska kiselina čini viskozni rastvor, dok veće koncentracije stvaraju gel. Tako, *staklasto telo* u oku je gel natrijum hijaluronata uz mrežu kolagenih vlakana. *Sinovijalna tečnost* u zglobu je pak mazivo koje sadrži 0,3% hijaluronske kiseline uz glikoprotein.
- Hijaluronska kiselina je **jedini glikozaminoglikan koji postoji slobodan, nezvan za proteine**.

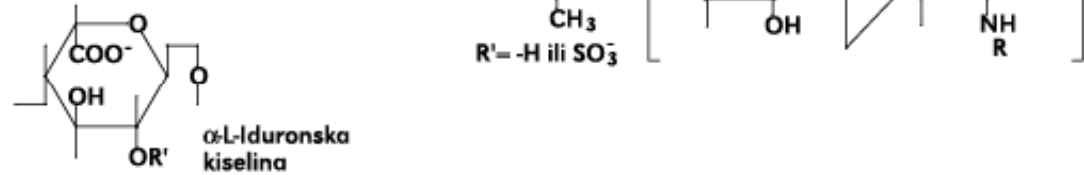
Hijaluronat



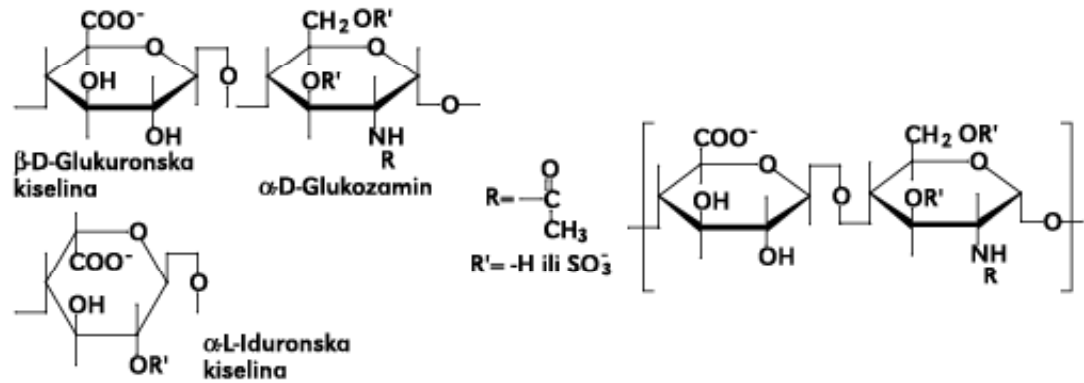
Hondroitin sulfati



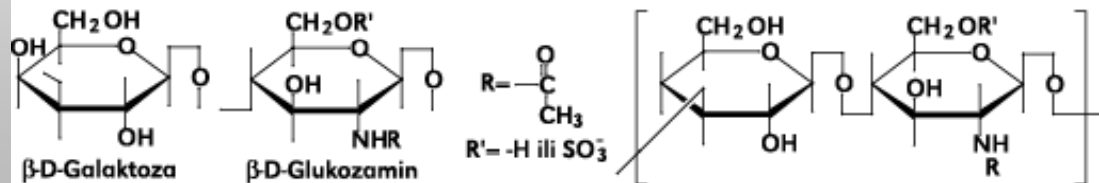
Dermatan sulfati



Heparan sulfat i heparin



Keratan sulfat



Vezivanje glikozaminoglikana za središnji protein

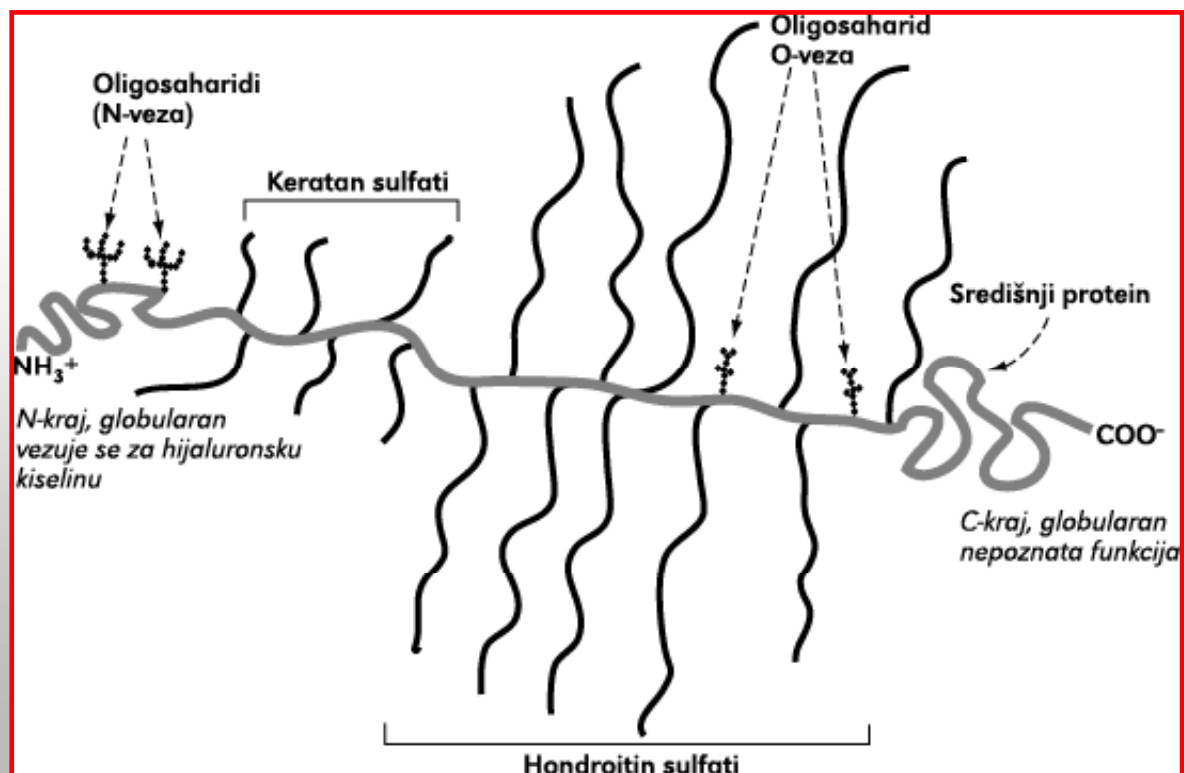
Hijaluronska kiselina je jedini glikozaminoglikan koji postoji slobodan, nevezan za proteine (evoluciono najstariji oblik GAG) Ostali glikozaminoglikani - **ondroitin sulfat, dermatan sulfat, heparin, heparin sulfat i keratan sulfat I i II** sadrže sulfatisane šećere, imaju kompleksnije ali kraće sekvence i kovalentno su vezani za proteine (*središnji protein*), najčešće preko **serina** ili **treonina** (keratin sulfat je vezan za asparagin);

Vezivanje GAG sa središnjim proteinom ostvareno je preko **specifične trisaharidne strukture**. Uz to, dok se ostali glikozaminoglikani sintetišu u ćeliji i oslobađaju se egzocitozom u vanćelijski prostor, enzimski kompleks koji sintetiše hijaluronsku kiselinu se nalazi na ćelijskoj membrani i direktno oslobađa lanac molekula u vanćelijski prostor.



Proteoglikani su kompleksi proteina sa glikanima

Glikozaminoglikani (hondroitin sulfat, dermatan sulfat, heparin, heparin sulfat i keratan sulfat I i II) su vezani kovalentnim vezama za proteine, čineći *proteoglikane*; čak do 95% mase proteoglikana mogu da sačinjavaju ugljeni hidrati. Proteoglikani se razlikuju međusobno po svom središnjem proteinu, a jedan središnji protein može da nosi veći broj različitih GAG

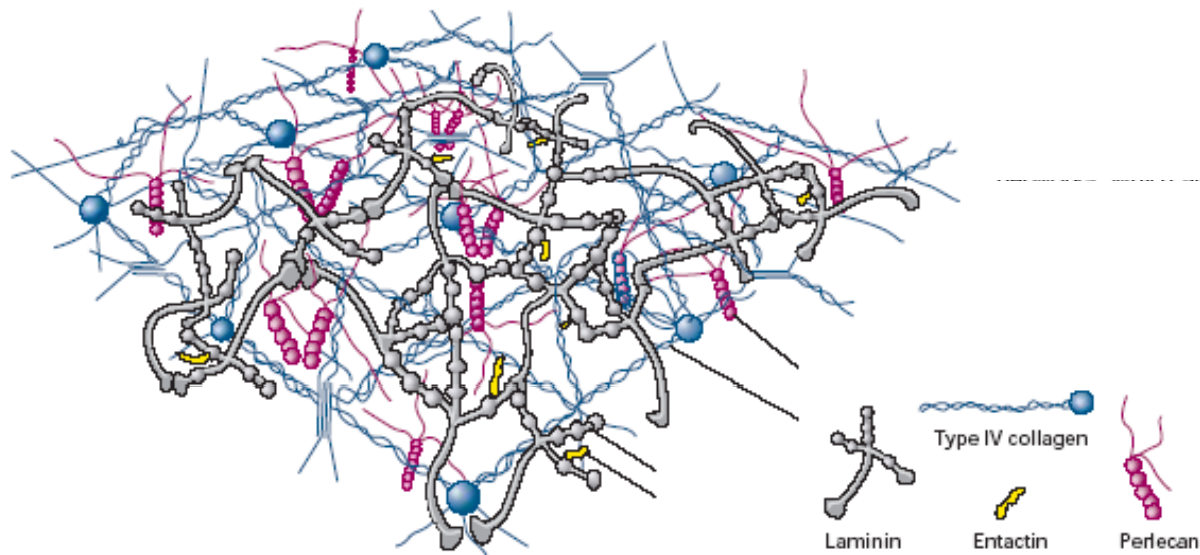


Struktura *agrekana*, osnovnog proteoglikana hrskavice.

Uočiti polarnost molekula i funkciju N-terminalnog kraja središnjeg proteina kojim se agrekan nekovalentno vezuje za hijaluronsku kiselinu. Za središnji protein vezane su različite vrste GAG.

Proteoglikani su osnovna komponenta amorfnе supstance u vezivnim tkivima

- U amorfnoj osnovnoj supstanci vezivnog tkiva nastaju **agregati proteoglikana** sa **hijaluronskom** kiselinom ili **drugim makromolekulom** (glikoproteini seruma, faktori rasta, kolagen, elastin, spolj. membrana ćelije itd.)
- U **vanćelijskom** prostoru proteoglikani reaguju sa **fibronektinom**, proteinom povezanim sa **integrinom**, proteinom ćelijske membrane. Ukrštena vlakna kolagena se udružuju sa ovim kompleksom što sve čini vanćelijski matriks.
- U **hrskavici** agregati proteoglikana daju tkivu elastičnost na pritisak, otpornost i osobine karakteristične za gel. Zajedno sa kolagenim vlaknima koja su "potopljena" u vanćelijski matriks i koja sprečavaju kidanje tkiva, proteoglikani su molekulska osnova mehaničkih karakteristika hrskavice i drugih tkiva.
- Heparin** je visokospecifičan antikoagulans: vezivanjem za antitrombin III (protein plazme) nastaje kompleks koji inhibiše serin proteaze u sistemu za koagulaciju krvi.
- Proteoglikan **perlekan** (sadrži heparan sulfat) ima ulogu molekularnog sita u membranama ćelija bubrežnih glomerula - lanci **GAG** čine okca sita.
- Smatra se takođe da su proteoglikani od velike važnosti za **hemijsku signalizaciju** među ćelijama, jer vezuju niz molekula uključujući i **faktore rasta**.



Glavne komponente bazalne lamine- prikazana je organizacija glavnih proteinskih komponenti. Osnovnu mrežu formiraju kolagen tip IV i laminin dok su za unakrsno povezivanje odgovorni entaktin i perlekan.

Komponente VĆM se sintetišu od strane ćelije VĆM. Četiri osnovne proteinske komponente su:

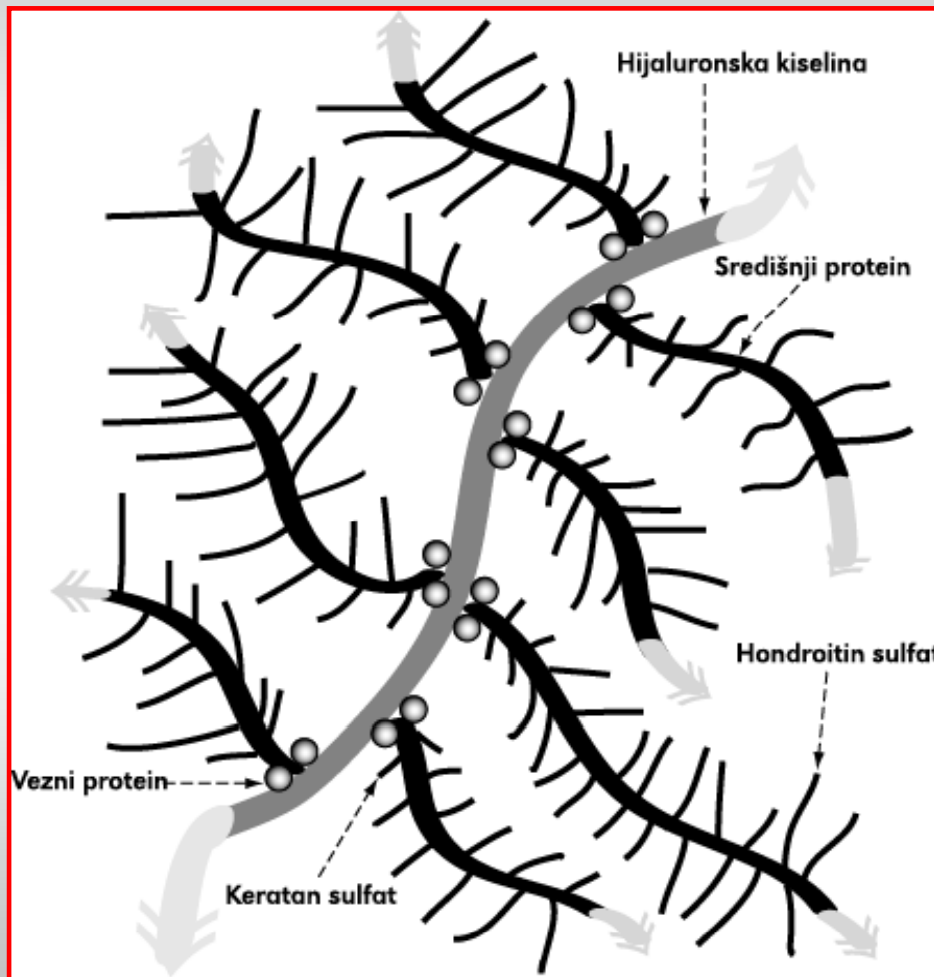
- *Kolagen tip IV*, trimerni molekul sa globularnim i štapićastim domenima, koji učestvuje u formiranju dvodimenzionalne mreže
- *Laminini*, familija miltiadhezivnih proteina koji formiraju fibroznu dvodimenzionalnu mrežu sa kolagenom tip IV, koji se istovremeno vezuje i za integrine
- *Entaktin* štapićasti molekul koji se unakrsno povezuje sa kolagenim vlaknima (tip IV) i pomaže umetanje ostalih komponenti VĆM
- *Perlekan*, veliki proteoglikan sa velikim brojem domena koji omogućava unakrsno povezivanje komponenti VĆM međusobno kao i sa molekulima na površini ćelija.

Kompleks hijaluronske kiseline sa agrekanom

Posebna je uloga *agrekan*, osnovnog proteoglikana hrskavice (čini $\sim \frac{1}{3}$ suve težine tkiva).

Središnji protein agrekana (2316 AK) ima nekoliko funkcionalnih domena: **N- i C-kraj** su **globularni** i ne nose **GAG**; **keratan sulfat** (50-80 lanaca) se nalaze bliže N-kraju, posle čega sledi 100 lanaca **hondroitin sulfata**. Celokupni molekul ima dužinu od oko $0,4 \mu\text{m}$. Ovi hidratizirani lanci se nekovalentno vezuju za **hijaluronsku kiselinu** svojim N-krajem; ovo vezivanje je ojačano *veznim proteinima* koji se, takođe nekovalentno, vezuju za hijaluronsku kiselinu.

Agregati koji nastaju su veoma veliki, molekulske težine $1-5 \times 10^8$ daltona i dužine od nekoliko mikrometara - zapremina jednog proteoglikanskog agregata je veća od bakterije.

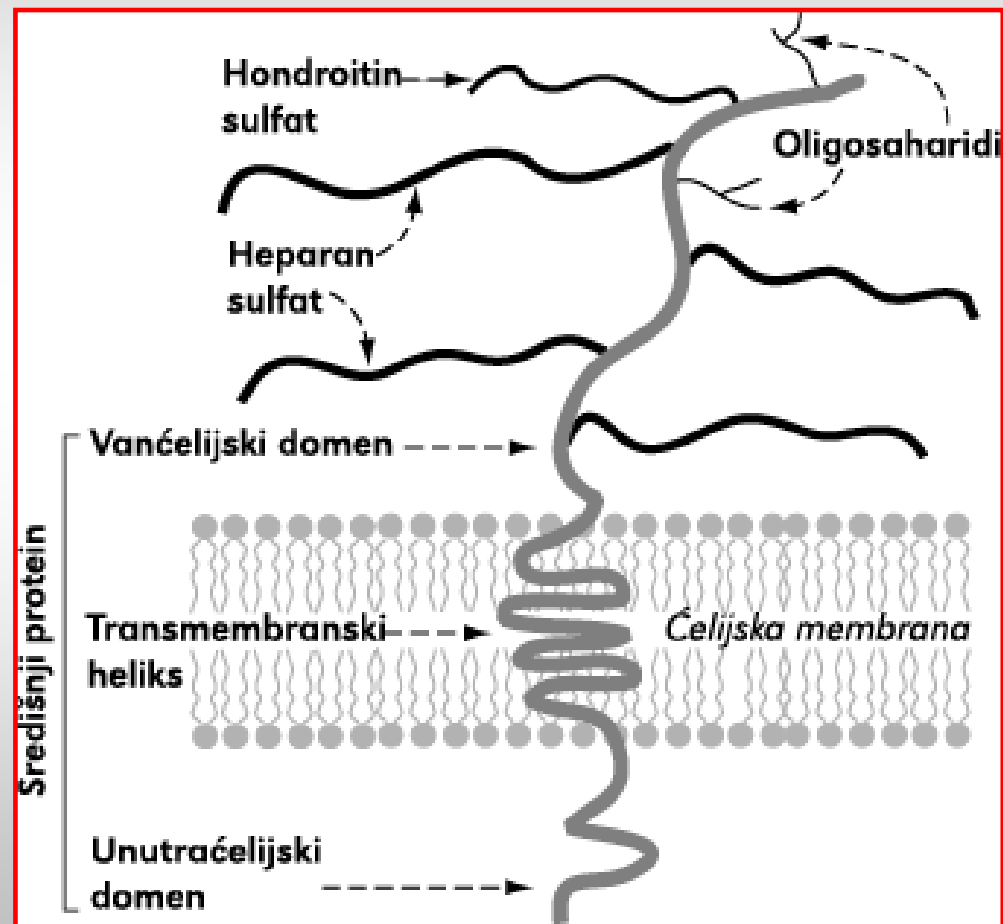


Proteoglikani se mogu naći i na površini ćelije

Prisustvo proteoglikana nije ograničeno na međucelijski prostor, već se oni mogu naći i na **površini ćelije** i mnogi proteoglikani su **integralni proteini plazma membrane** i čine **receptore** za hormone, **mesta međusobnog prepoznavanja** ćelija, mesta gde se ćelije **spajaju** ili imaju ulogu u **transportu** supstanci kroz ćelijsku membranu.

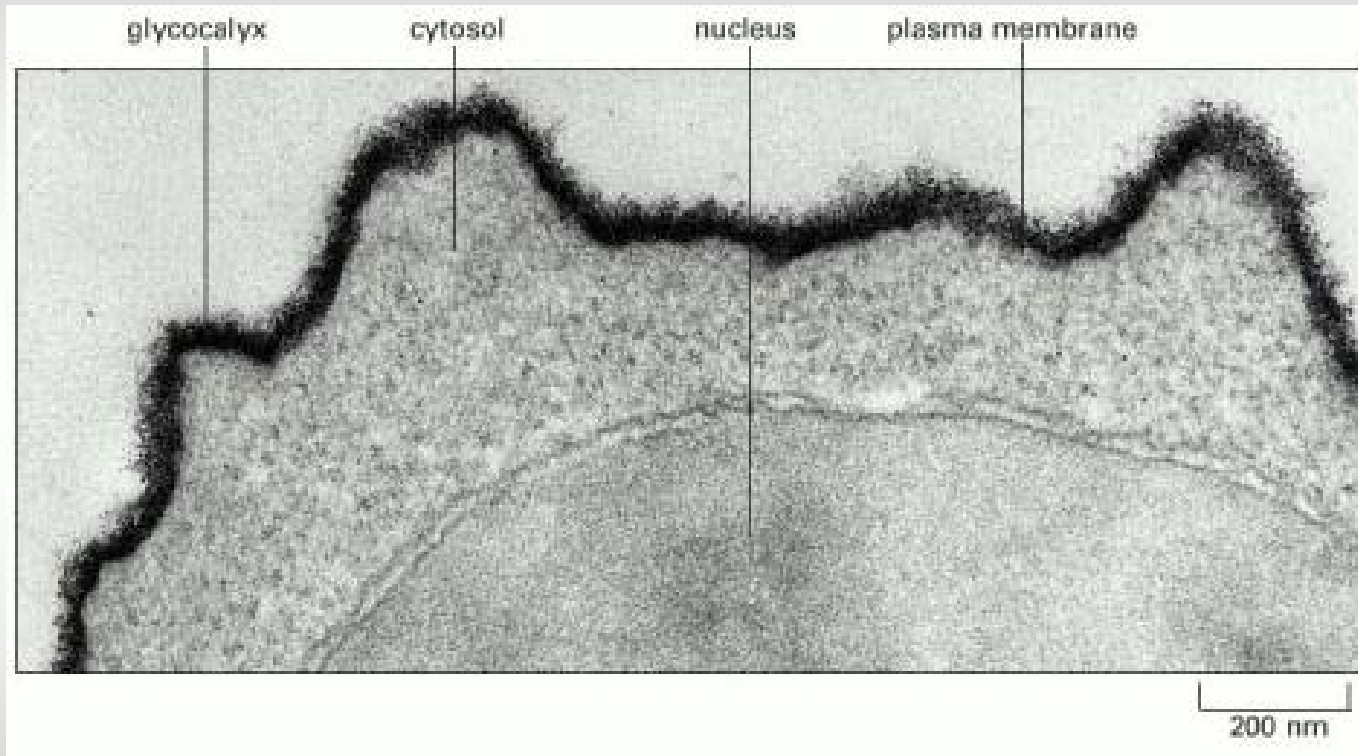
Najčešći GAG u ovim proteoglikanima je **heparan sulfat**; znatno manje ima **hondroitin sulfata**.

Vrlo često, proteoglikani plazma membrane su **koreceptori**, vezuju signalni molekul, najčešće faktore rasta. Ovo vezivanje omogućava interakciju signalnog molekula i receptora na ćeliji čime otpočinje ćelijski odgovor na signal.



Proteoglikan na površini

Zajedno sa glikolipidima i glikoproteinima proteoglikani na površini ćelije čine *ćelijski glikokaliks*, ćelijski pokrov, na koji se adsorbuju i glikoproteini i proteoglikani izlučeni u međućelijski prostor.



Ovaj pokrov bogat ugljenim hidratima ima zaštitnu funkciju te je posebno upadljiv u **epitelnim tkivima**: štiti ćelijsku membranu od mehaničkih i hemijskih oštećenja i **obezbeđuje potrebno rastojanje** koje sprečava nepoželjne interakcije između proteina. No, ugljeni hidrati glikokaliksa omogućavaju **prolazne adhezione interakcije** među ćelijama, kao što su interakcije pri zgrušavanju krvi, recirkulaciji limfocita i zapaljenskoj reakciji.

Biološke uloge nekih proteoglikana

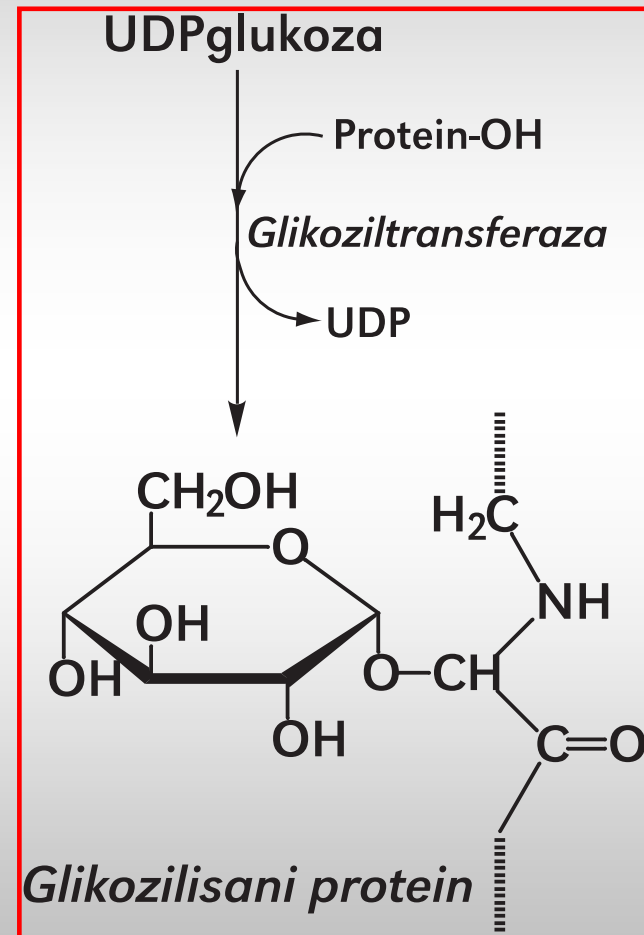
<i>Proteoglikan</i>	<i>GAG</i>	<i>Broj lanaca GAG</i>	<i>Lokalizacija</i>	<i>Uloga</i>
Agrekan	Hondroitin sulfat, karatan sulfat	~130	Hrskavica	Mehanička potpora
Dekorin	Hondroitin sulfat, dermatan sulfat	1	Vezivno tkivo	Vezuje se za tip I kolagenih vlakana
Perlekan	Heparan sulfat	2-15	Bazalna lamina	Daje strukturalnu potporu, molekularni filter
Serglicin	Hondroitin sulfat, dermatan sulfat	10-15	Sekretorne vezikule u leukocitima	Olakšavanje pakovanja i čuvanja molekula za sekreciju
Sindekan-1	Hondroitin sulfat, heparan sulfat	1-3	Površina fibroblasta i epitelnih ćelija	Ćelijska adhezija, vezivanje faktora rasta

U sintezi proteoglikana šećeri se dodaju uzastopno jedan na drugi

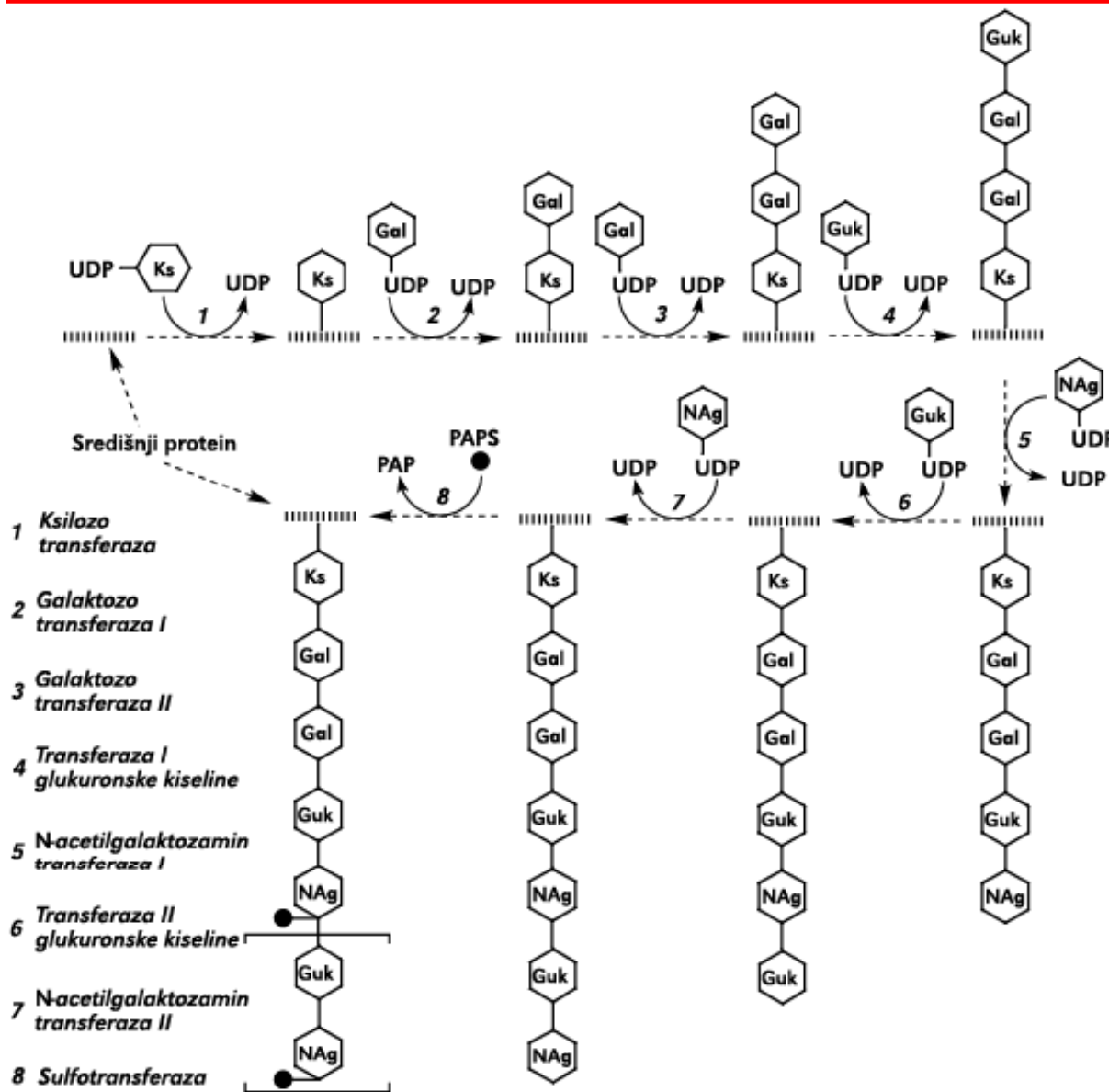
Kao i drugi proteini, središnji protein proteoglikana se sintetizira na **zrnastom endoplazmatskom retikulumu**, a **polisaharidi** se konstruišu i u retikulumu i u Goldži aparatu.

Po sintezi na zrnastom endoplazmatskom retikulumu, središnji protein ulazi u lumen retikuluma gde se vrši početna glikozilacija, koja se zatim nastavlja u Goldži aparatu.

Davaoci šećera su UDP-derivati heksoza, a vezivanje ostvaruju transferaze koje su specifične za šećer, za tip veze koji se formira i za već postojeći šećer u lancu.



Sinteza hondroitin sulfata



Prva glikozilacija - vezivanje ksiloze (Ks) za serin u središnjem proteinu. Dodaju se 2 galaktoze (Gal), pa glukuronske kiseline (Guk) i *N*-acetil-galaktozamin (NAg).

Naredna dodavanja vrše naizmenično dva enzima, čime se dobija disaharidna jedinica koja se ponavlja. Jedan enzim (6) ugrađuje glukuronsku kiselinu a drugi (7) *N*-acetil-galaktozamin. U toku rasta lanca se dodaju i sulfatne grupe

Po sintezi proteoglikani se izlučuju iz ćelije i u prostoru između ćelija nastaju agregati vanćelijskog matriksa

Razgradnja proteoglikana

- Razgradnja proteoglikana se vrši u ćeliji, pošto se ovi preuzmu endocitozom iz vanćelijskog matriksa.
- Endocitozne vezikule se zakišeljavaju i spajaju se sa lizozomima u kojima čitav niz enzima učestvuje u razgradnji pojedinih glikozaminoglikana iz proteoglikana. (Npr., za kompletnu razgradnju heparan sulfata neophodno je prisustvo tri različite *egzoglikozidaze*, četiri *sulfataze* i *acetiltransferaza*).
- **Udaljavanje jednog po jednog monosaharida sa neredukujućeg kraja egzoglikozidazama** je tipičan način razgradnje GAG i samo se hijaluronska kiselina i hondroitin sulfat razgrađuju hidrolizom veza unutar molekula, dejstvom *endoglikozidaze* ("hijaluronidaza").
- **Nedostatak enzima za razgradnju glikozaminoglikana je uzrok mukopolisaharidoza**

Nedostatak enzima za razgradnju glikozaminoglikana je uzrok mukopolisaharidoza

Nedostatak i samo jednog lizozomalnog **enzima** koji učestvuje u razgradnji glikozaminoglikana narušava striktni redosled razgradnje i ima za posledicu **nagomilavanje GAG u lizozomima**.

Ova oboljenja su označena kao **mukopolisaharidoze** (po zastarelom imenu za glikozilaminoglikane, "mukopolisaharidi") i spadaju u grupu tzv. **oboljenja deponovanja u lizozomima** zajedno sa oboljenjima koja su posledica nagomilavanja metabolita složenih lipida.

Mukopolisaharidoze su **retka nasledna oboljenja** (1 slučaj na 20.000-30.000 živorođenih). Oboljenja se nasleđuju kao autozomalno recesivna ili vezana za X-hromozom.

Stepen ispoljavanja oboljenja zavisi od toga da li enzimska aktivnost nedostaje u potpunosti ili je aktivnost enzima niska. Simptomi se ne ispoljavaju na rođenju, već se postepeno pogoršavaju zbog nagomilavanja **GAG**.

Tako, poremećaji u razgradnji keratan sulfata i dermatan sulfata izazivaju deformitete skeleta i druge poremećaje vezivnog tkiva koji postepeno napreduju sa starenjem. Kako je heparan sulfat jedini **GAG** u nervnom sistemu, poremećaji u metabolizmu ovog glikozaminoglikana vodi mentalnoj zaostalosti.

Tip	Eponim	Enzim koji nedostaje	Zahvaćeni GAG	Kliničke osobine
I H	Harler (Hurler)	α-L-Iduronidaza (potpuni nedostatak)	Dermatan sulfat, heparan sulfat	Deformiteti skeleta, patuljast rast, zamućenje rožnjače, mentalna zaostalost, rana smrt (do 10-te godine)
I S	Šeje (Scheie)	α-L-Iduronidaza (delimični nedostatak)	Dermatan sulfat, heparan sulfat	Zamućenje rožnjače, kruti zglobovi, normalna inteligencija i dužina života
II	Hanter (Hunter)	Iduronat sulfataza	Dermatan sulfat, heparan sulfat	Slično kao Harler, bez zamućenja rožnjače, smrt oko 10-15-te godine
IIIA	Sanfilipo A (Sanfilippo A)	Heparan-N-sulfataza		
IIIB	Sanfilipo B (Sanfilippo B)	α-N-Acetil-glukoza-minodaza		
IIIC	Sanfilipo C (Sanfilippo C)	Acetil-CoA: α-glukozaminid acetil-transferaza	Heparan sulfat	Izrazita mentalna retardacija, fizičke nenormalnosti su blage
IIID	Sanfilipo D (Sanfilippo D)	N-Acetil-glukozamin 6-sulfataza		
IVA	Morkio A (Morquio A)	Galaktozo 6-sulfataza	Keratan sulfat	Izraziti deformiteti skeleta, zamućenje rožnjače, normalna inteligencija
IVB	Morkio B (Morquio B)	β-Galaktozidaza		
VI	Maroto-Lami (Maroteaux-Lamy)	N-Acetil-galaktoza min 4-sulfataza	Dermatan sulfat	Izraziti deformiteti skeleta, zamućenje rožnjače, normalna inteligencija
VII	Slaj (Sly)	β-Glukuronidaza	Dermatan sulfat, heparan sulfat	Deformiteti skeleta, uvećanje jetre i slezine

Glikoproteini

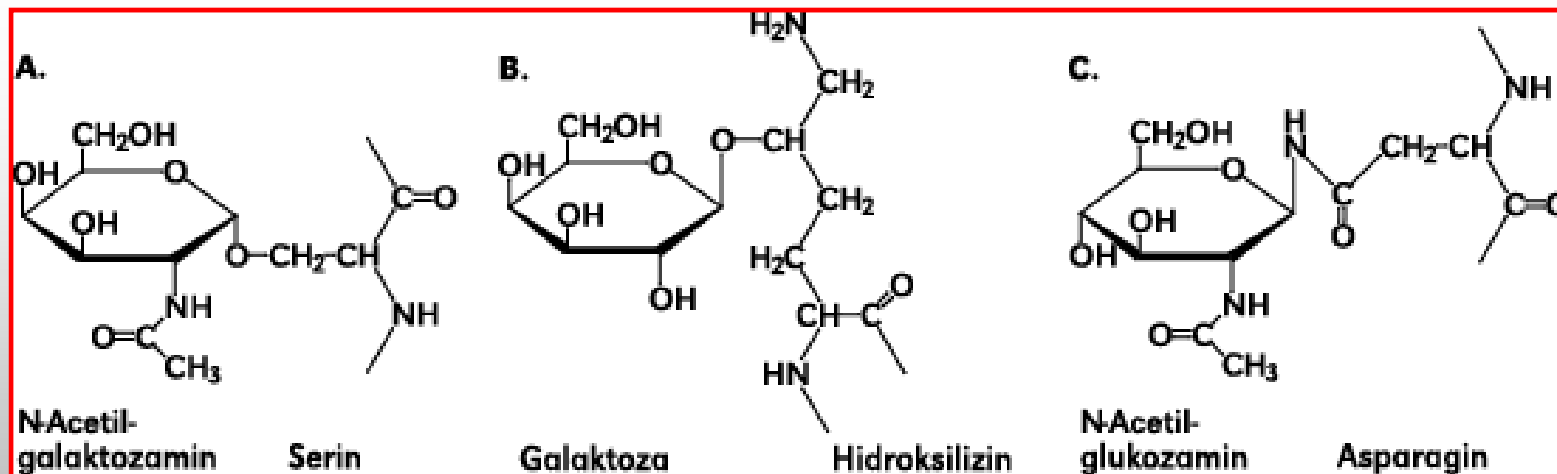
- Ukoliko neki **protein** ima za sebe **vezane oligosaharide**, bilo razgranate ili pravog lanca, taj protein je označen kao ***glikoprotein***.
- Prisustvo oligosaharida može da doprinese **stabilnosti** proteina, **olakša** njegovo **uvijanje** u oblik potreban za punu biološku aktivnost, obezbedi proteinu osobine koje omogućavaju njegovo **prepoznavanje** od strane drugog proteina ili je oligosaharid **deo lipidnog sidra** kojim je protein vezan za membranu.
- Glikoproteini se nalaze kako **unutar** tako i **van ćelije**.
- Oni u ćeliji sadrže molekul *N*-acetilglukozamina koji je vezan **O-vezom** za serin ili treonin.
- Glikoproteini izlučeni u vanćelijski matriks imaju složenije oligosaharide koji sadrže 4-30 šećera. Tako, *mucini* sadrže razgranate strukture vezane **O-vezom**; ovi glikoproteini su nosioci karakteristika krvnih grupa

Glikoproteini sadrže oligosaharide vezane za atome azota ili kiseonika bočnih lanaca aminokiselina

Vezivanje ugljenog hidrata za protein ostvaruje se kovalentnom vezom šećera sa bočnim lancima nekih aminokiselina.

O-glikozidna veza - ugljeni hidrat vezuje za OH grupu serina, treonina ili hidroksilizina;

N-glikozidna veza - šećer se vezuje za amidnu grupu asparagina.



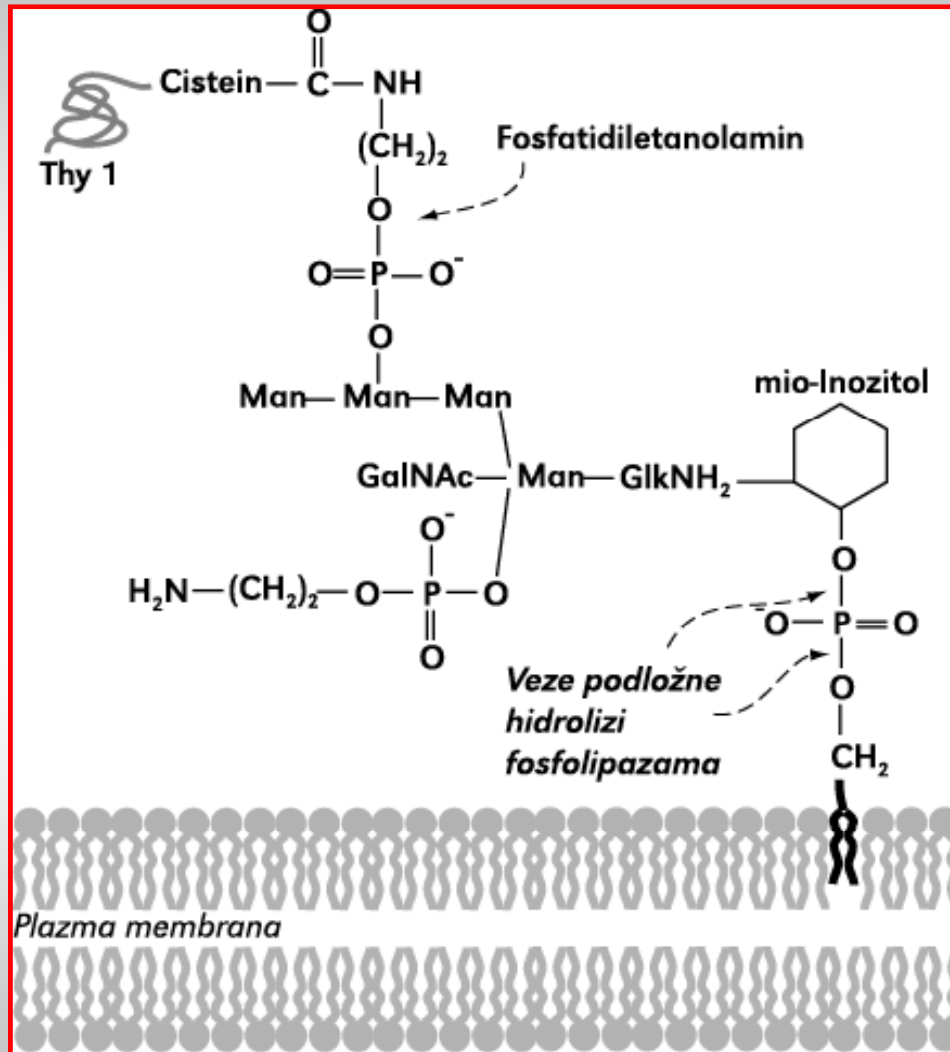
Veze se ostvaruju sa aminokiselinama poređanim u karakteristične sekvence - npr. za N-vezu uslov je sekvenca asparagin-(AK)-serin.

Ugljeni hidrati koji su vezani **N-vezom** za proteine uvek sadrže **manozu** i **N-acetil-glukozamin** uz galaktozu, fukozu i **N-acetilneuraminsku** kiselinu.

Postoje tri osnovna tipa strukture kojim su razgranati lanci vezani za protein: **oligomanozil**, **hibridni** i **laktozaminski tip**. Izmene koje se dešavaju u spoljnim lancima često služe kao markeri koji omogućavaju da molekul bude usmeren ka odgovarajućem odredištu.

Tako, hidrolitički enzimi namenjeni za lizosome imaju oligomanozil ugljeni hidrat sa manozo 6-P na kraju lanca; po sintezi u *cis* Goldži cisterni ovi glikoproteini se smeštaju u vezikule koje imaju *receptor za manozo 6-P*. Kako je u ovom *prelizozomu* (vezikula pokrivena *klatrinom*, končastim proteinom) sredina kisela, veza između receptora i enzima se kida, enzim je slobodan. Vezikula difunduje do lizozoma i po fuziji enzim koji nije vezan za receptor ulazi u lizozom.

GPI sidro



Neki proteini su vezani za ćelijsku membranu *glikozilfosfatidilinozitol (GPI) sidrom*.

Glukozaminska grupa oligosaharida je vezana za fosfatidilinozitol, koji je vezan za 2 lanca masnih kiselina (diacilglicerol), koji usidravaju ceo molekul u plazma membranu.

Protein je vezan za oligosaharidnu strukturu preko fosfatidiletanolamina.

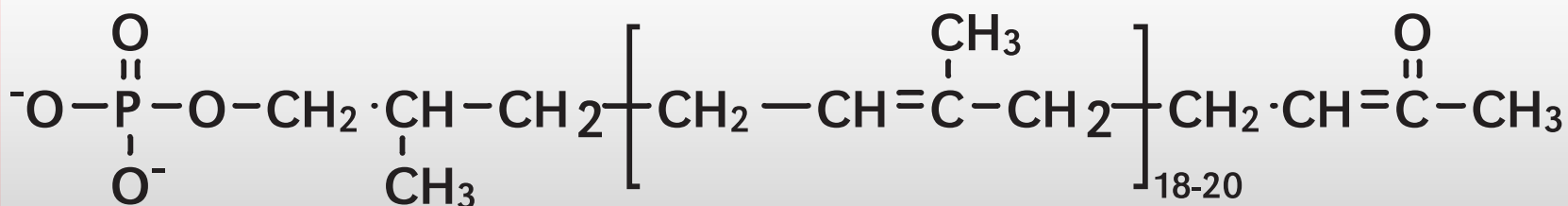
Fosfolipaze mogu da oslobode protein sa GPI sidra → moguća funkcija usidranja proteina na membrani je regulacija koncentracije ovih proteina na ćelijskoj membrani i u telesnim tečnostima.

Lektini su proteini koji se specifično vezuju za ugljene hidrate u glikokonjugatima

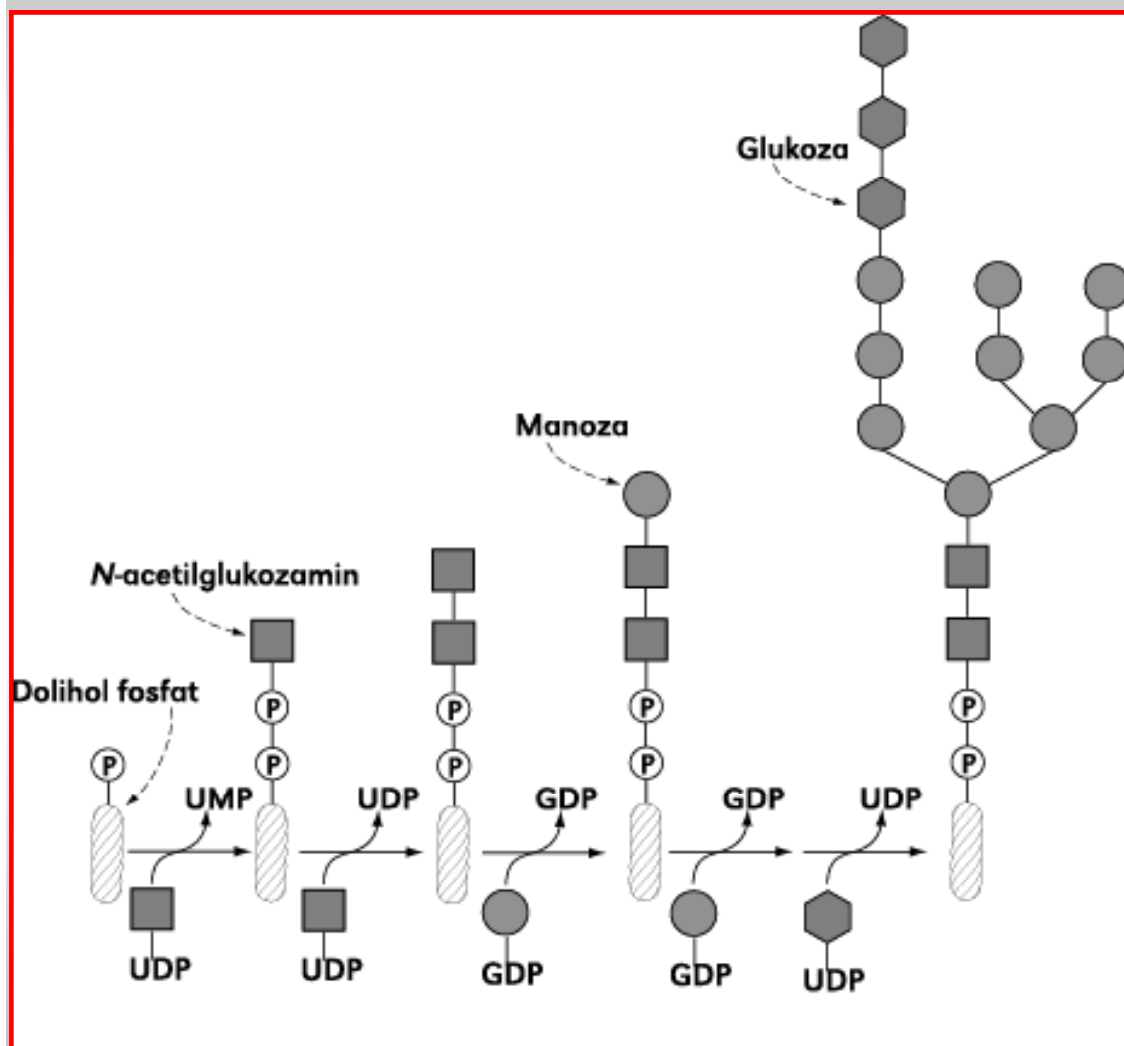
- *Lektini* kičmenjaka su neimunski proteini koji se vezuju za ugljene hidrate i mogu da izazovu aglutinaciju ćelija ili taloženje glikoproteina.
- Lektini mogu biti ili u sastavu ćelijske membrane ili slobodni u telesnim tečnostima.
- Osnovna uloga lektina je, najverovatnije, u prepoznavanju ćelija; niz molekula uključenih u procese prepoznavanja ima u svojoj strukturi lektinske domene.
- *E-selektin* je takav glikoprotein koji se sintetiše u endotelnim ćelijama po njihovoj aktivaciji *citokinima*. (Citokini su mali proteini koje luči jedna vrsta ćelija i koji utiču na ponašanje druge vrste ćelija.) Uloga E-selektina je da veže leukocite i olakša njihov prenos iz krvotoka kroz endotel postkapilarnih venula do mesta zapaljenja ili povrede. U ovom slučaju neophodno je prepoznati pravu subpopulaciju leukocita među svim ćelijama u cirkulaciji i to je bar delom ostvareno preko ugljenih hidrata.

Sinteza N-vezanih glikoproteina otpočinje stvaranjem kompleksa šećera na lipidnom nosaču, dolihol fosfatu

Sinteza glikoproteina se odvija u zrnastom endoplazmatskom retikulumu i cisternama Goldži kompleksa. Proces otpočinje na citosolnoj strani endoplazmatskog retikuluma; u membrani retikuluma se nalazi *dolihol fosfat*, koji je supstrat za glikoziltransferazu koja prenosi *fosfo-N-acetilglukozamin* iz UDP-*N*-acetilglukozamina na fosforu grupu doliholfosfata



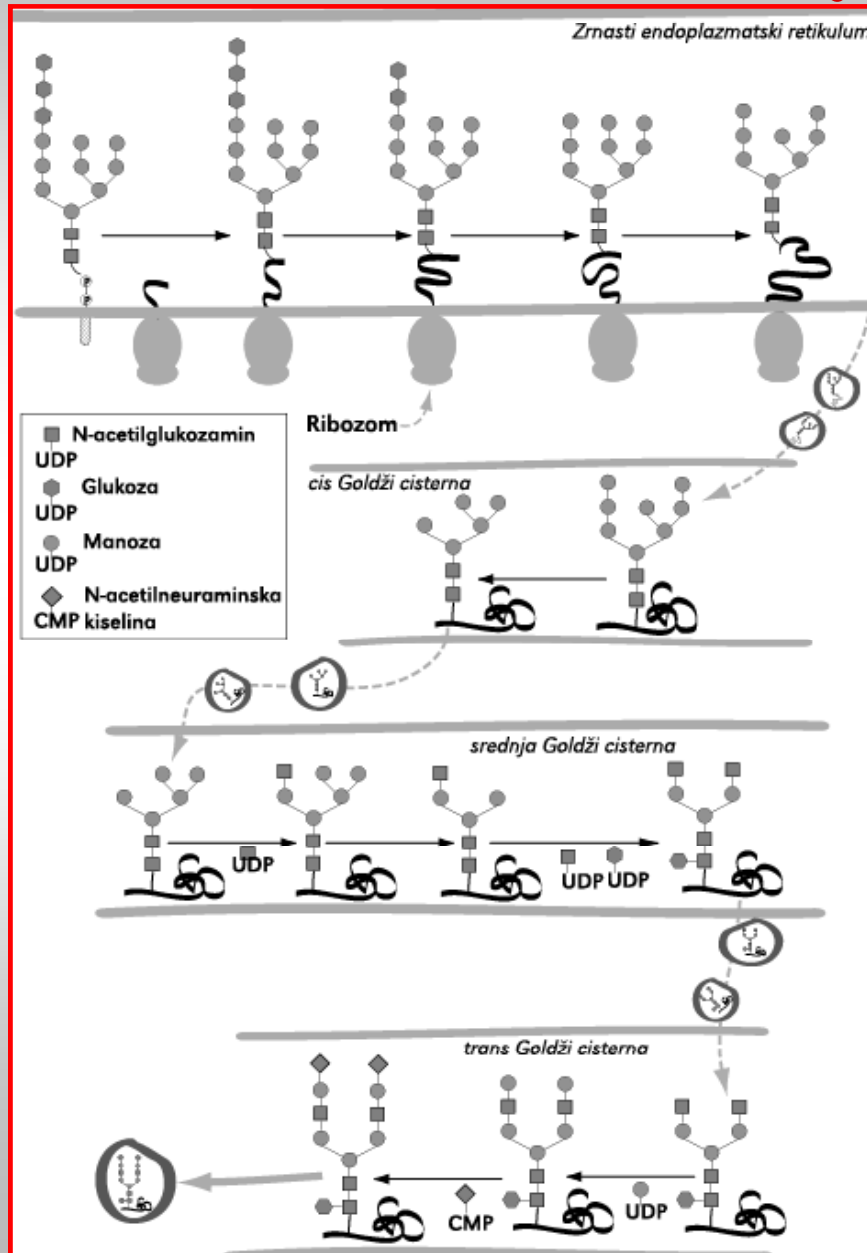
Sinteza oligosaharida da dolihol fosfatu



Šećeri se dodaju na rastući lanac ugljenog hidrata, pri čemu se deo sinteze obavlja na citosolnoj strani endoplazmatskog retikuluma, a deo na luminalnoj strani membrane, po translokaciji dolihol-P-oligosaharidnog kompleksa; dolihol fosfat je i dalje usađen u membranu endoplazmatskog retikuluma.

Konačna struktura sadrži dva molekula *N*-acetil-glukozamina, 9 manozia i tri glukoze.

Konačna obrada se vrši u Goldži aparatu, posle vezivanja za protein



Po stvaranju kompleksa na dolihol fosfatu, oligosaharidna struktura se prenosi na asparaginsku bočnu grupu u narastajućem proteinskom lancu, stvara se N-veza; ovaj prenos vrši **oligosahariltransferaza**. Po vezivanju za protein specifične egzoglikozidaze sekvencijalno uklanjaju šećere na krajevima lanaca.

U trenutku kada oligosaharid sadrži 8 molekula manoze i kada je završena sinteza proteina, glikoproteinski intermedijat (Man₈ oligosaharid) se prenosi vezikularnim transportom u *cis* Goldži cisternu.

U srednjoj Goldži cisterni se stvara struktura koja sadrži N-acetilglukozamin na krajevima lanaca; moguće je dodavanje šećera i na središnji manozni lanac te se stvaraju dodatni bočni lanci.

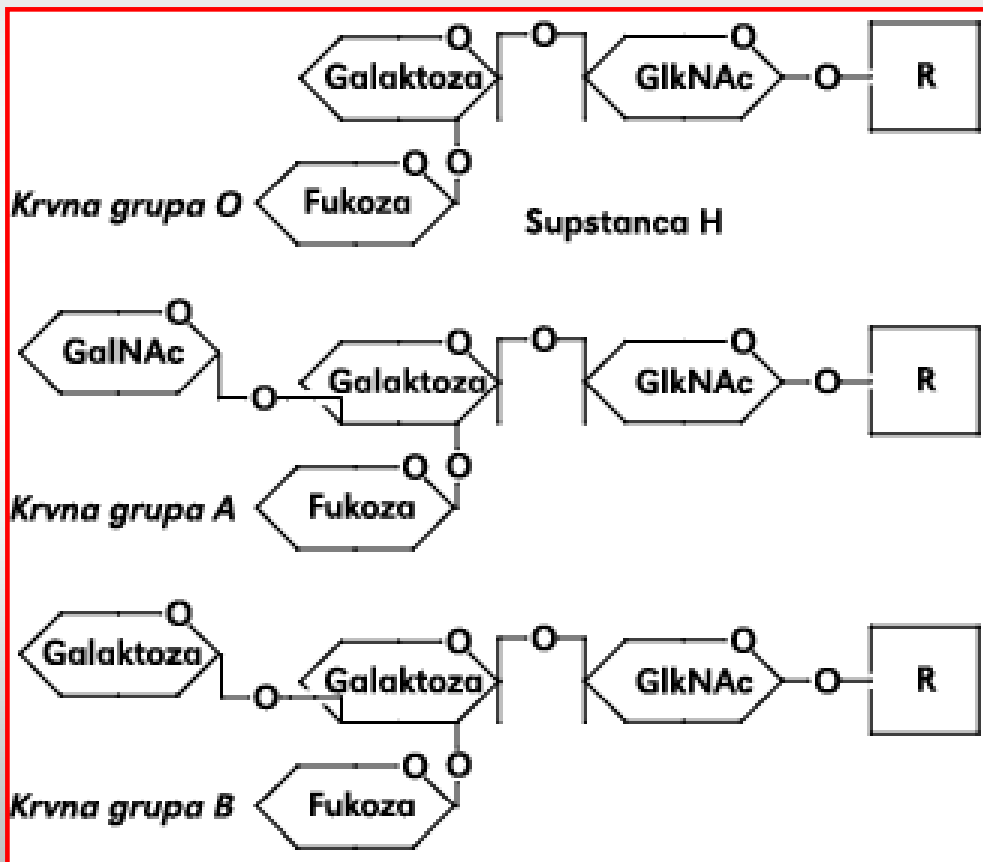
U *cis* Goldži cisterni Man8 oligosaharid se dalje obrađuje udaljavanjem još tri krajnje šećerne grupe, te nastaje Man5 oligosaharid, koji se sada prebacuje u srednju Goldži cisternu. Međutim, ukoliko je Man8 oligosaharid udružen sa nekim lizosomalnom enzimom - lizosomalna hidrolaza - on se modifikuje tako da se na kraju lanca pojavljuje manozo 6-P, koji se vezuje za manozo 6-P receptor i obezbeđuje transport hidrolaze do lizozoma, kao što je ranije opisano.

Po prenosu u *trans* Goldži cisternu na krajeve lanca se dodaju fukoza, galaktoza i *N*-acetilneuraminska kiselina, te se formira oligosaharid u svom završnom obliku i izlučuje se u vezikuli koja ga odnosi do konačnog odredišta, najčešće do plazma membrane.

O-tip veze se stvara direktnim vezivanjem šećera za serin ili treonin u proteinu

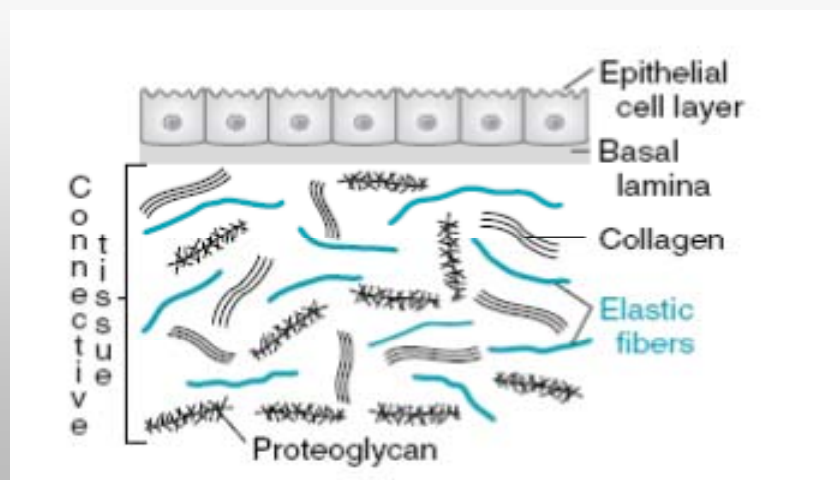
- **O-tip veze** se stvara u glikoproteinima tako što specifična transferaza prenosi šećer sa UDP-*N*-acetilgalaktozamina na serin ili treonin odgovarajućeg proteina - ne postoji intremedijat vezan za dolihol. Ova početna reakcija - vezivanje *N*-acetil-galaktozamina - se odvija u Goldži membranama koje se nalaze odmah iza endoplazmatskog retikuluma a ispred *cis* Goldži cisterni.
- Preostali deo strukture oligosaharida se sintetiše u Goldži aparatu sekvencijalnim dodavanjem šećera (iz nukleotid-derivata) delovanjem specifičnih glikoziltransferaza.
- Glikoproteini sa O-tipom veze a koji se nalaze u membranama obično nemaju dugačke oligosaharide, za razliku od onih u telesnim tečnostima, posebno u *mucinima*, koji imaju veoma duge lance koji se često završavaju izrazito imunogenim oligosaharidnim grupama.

Krvna grupa čoveka je određena imunogenim oligosaharidnim grupama glikoproteina



Supstance koje određuju krvnu grupu su ustvari **izrazito imunogene oligosaharidne grupe koje se nalaze u mnogim glikoproteinima**. Činjenica da su ovi molekuli široko rasprostranjeni na ćelijama i telesnim tečnostima uslovljava snažan imunski odgovor ukoliko se u organizam unese neodgovarajući tip ćelije ili tečnosti.

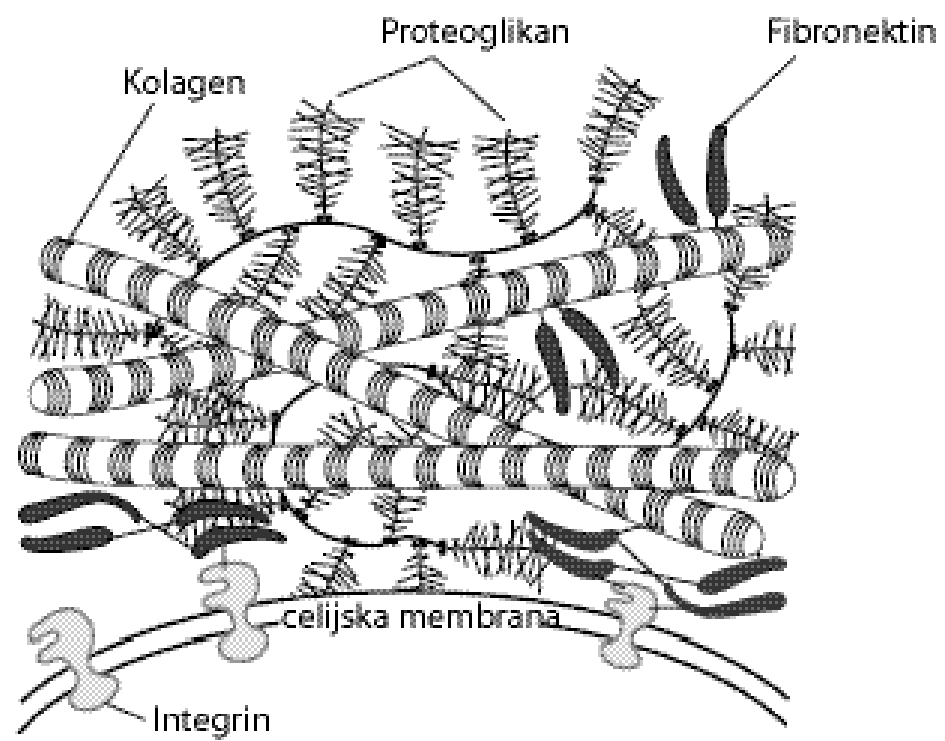
- Mnoge ćelije tkiva su uronjene u vanćelijski matriks koji ispunjava prostor između ćelija i povezuje ćelije i tkiva međusobno. Na ovaj način, vanćelijski matriks pomaže u determinisanju oblika tkiva kao i razlikovanju tipova tkiva.
- Osnovne komponente vanćelijskog matriksa su fibrozne strukture kao što su kolagen, proteoglikani i adhezioni proteini koji povezuju komponente matriksa međusobno a i sa ćelijama. Ove fibrozni strukturni elementi su sastavljeni od ponavljajućih elemenata koji formiraju linearne strukture.
- Kolagen, elastin i lamini su osnovni proteini vezivnog tkiva



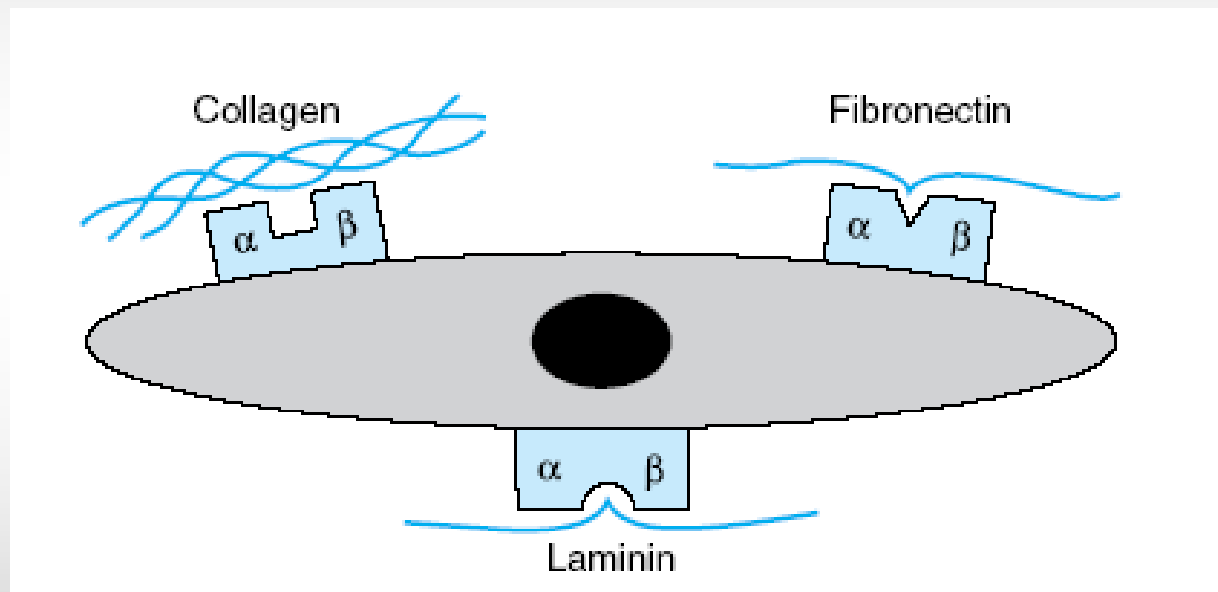
ADHEZIONI PROTEINI

Adhezioni proteini su prisutni u vanćelijskom matriksu i oni vezuju integrine za komponente vanćelijskog matriksa. To su proteini koji sadrže veliki broj domena zahvaljujući kojima je moguće istovremeno vezivanje velikog broja različitih komponenti.

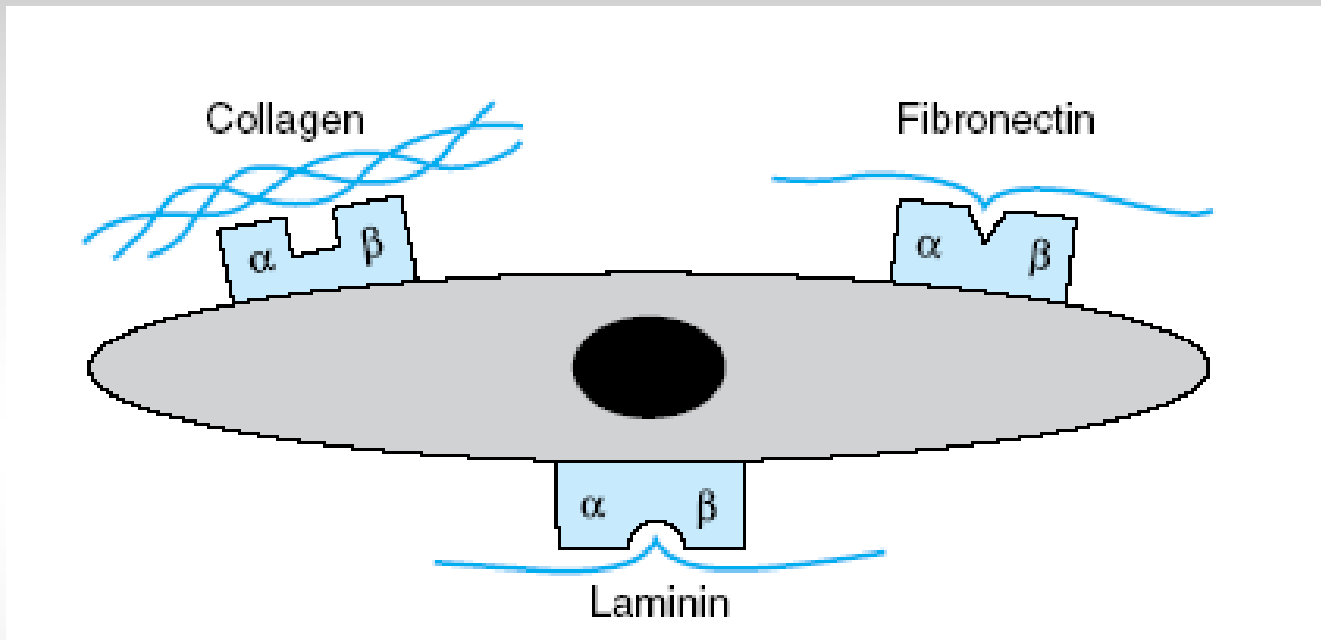
Na primer, **fibronektin** predstavlja jedan od adhezionih proteina, koji pored veznog mesta za integrine sadrži i vezna mesta za kolagen i za glikozaminoglikane. Kako je integrin vezan za proteine unutarćelijskog skeleta, to adhezioni proteini formiraju most između aktinskih mikrofilamenata unutar ćelije i ćelijskog položaja unutar vanćelijskog matriksa.



- Adhezioni proteini, kao što su fibronektin i laminin, su vanćelijski glikoproteini koji sadrže odvojene različite vezujuće domene za proteoglikane, kolagen i fibrin. Ovi domeni omogućavaju ovim proteinima da vezuju različite komponente vanćelijskog matriksa.
- Takođe, oni poseduju i specifične vezujuće domene za specifične ćelijske receptore, poznate kao integrini.

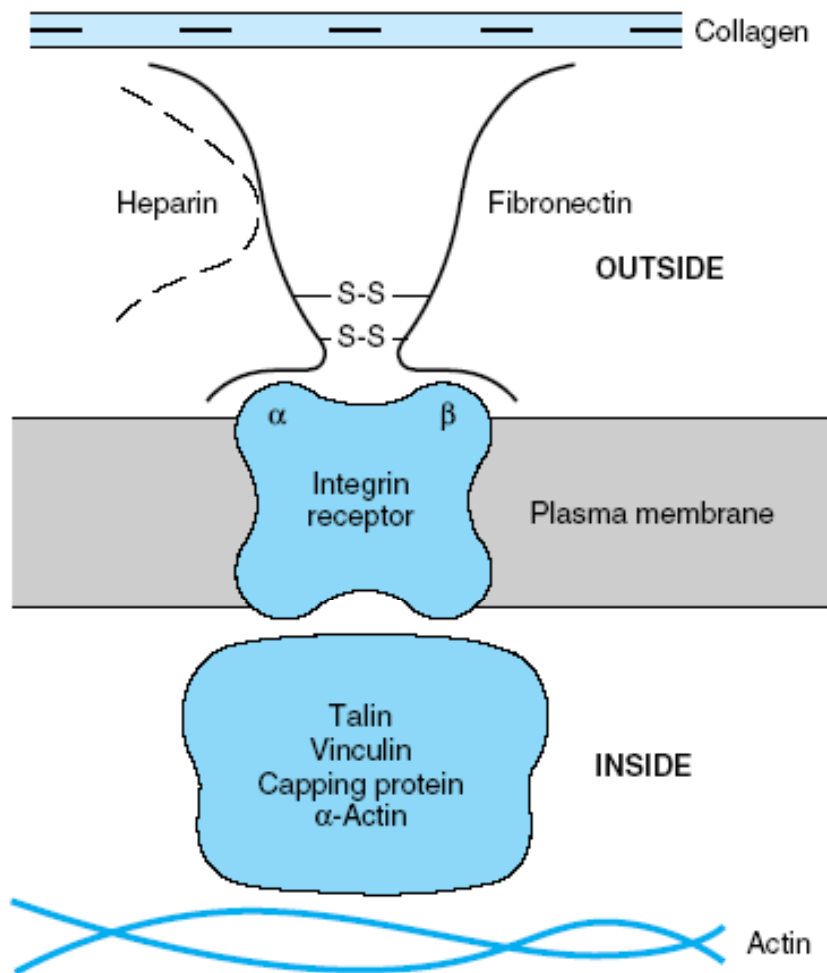


- Integrini takođe omogućavaju međućelijsku komunikaciju kako unutarćelijskim signalima tako signalima koji nastaju u vanćelijskom matriksu.



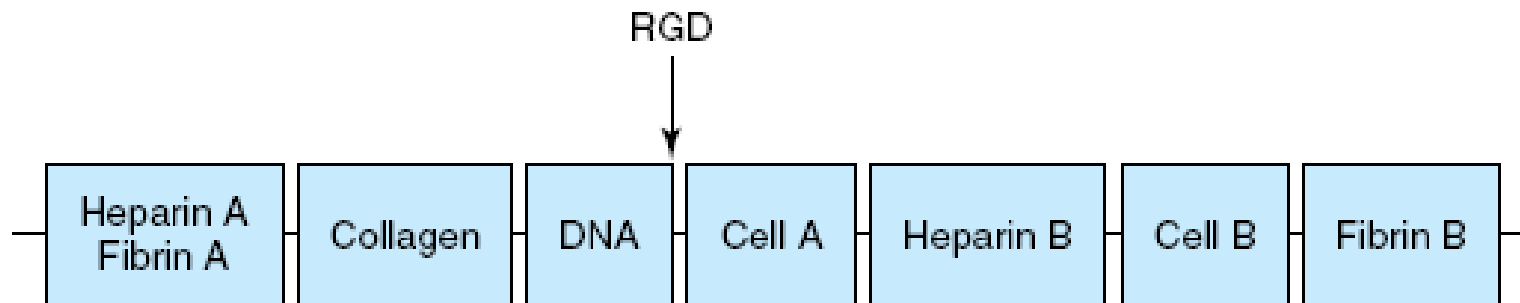
Šematki prikaz interakcije ćelije preko različitih integrinskih receptora sa kolagenom, fibronektinom i lamininom koji su prisutni u vanćelijskom matriksu.

➤ Ovi integrini se vezuju za fibronektin na spoljašnjoj površini ćelije, prolaze kroz ćelijsku membranu i vezuju se za proteine koji su sa svoje strane vezani za unutarćelijske aktinske filamente koji ulaze u sastav citoskeleta.



Šematki prikaz interakcije fibronektina sa integrinskim fibronektinskim receptorom koji se nalazi na spoljašnjoj strani plazma membrane ćelija u sastavu vanćelijskog matriksa kao i sa različitim povezujućim proteinima koji direktno ili indirektno reaguju sa aktinskim mikrofilamentima u citosolu.

Šematski prikaz fibronektina



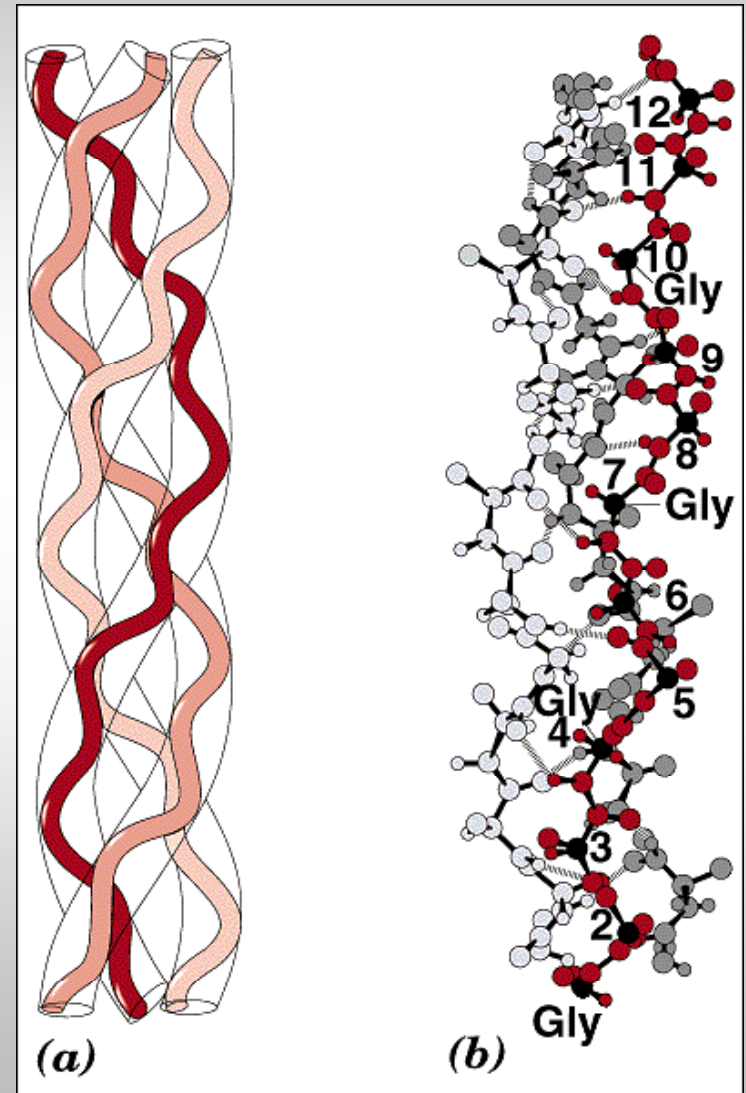
Sadrži sedam funkcionalnih domena. Prikazana su 2 različita domena za heparin, vezivanje za ćelije i fibrin.

Domeni se sastoje od različitih kombinacija 3 strukturalna motiva (I, II, i III). Treba uzeti u obzir da je fibronektin DIMER čiji su monomeri međusobno povezani disulfidnim mostovima koji su postavljeni blizu COOH kraja monomera.

RGD (Arg-Gly- Asp) sekvenca fibronektina je odgovorna za njegovu interakciju sa različitim fibronektin integrin receptorima na površini ćelije.

FIBROZNI PROTEINI

- Kolagen predstavlja familiju fibroznih proteina, Najvećim delom ga stvaraju fibroblasti, mišićne i epitelne ćelije.
- Najzastupljeniji u tkivima sisara je kolagen tip I i glavna je komponenta vezivnog tkiva. Prisutan je u vanćelijskom matriksu vezivnog tkiva, kosti, tetiva, kože, krvnih sudova i kornee. U sastav kolagena I ulazi glicin (33%) i prolin odnosno hidroksiprolin (21%).



TIPOVI KOLAGENA

Do danas je okarakterisano oko 19 tipova kolagena.

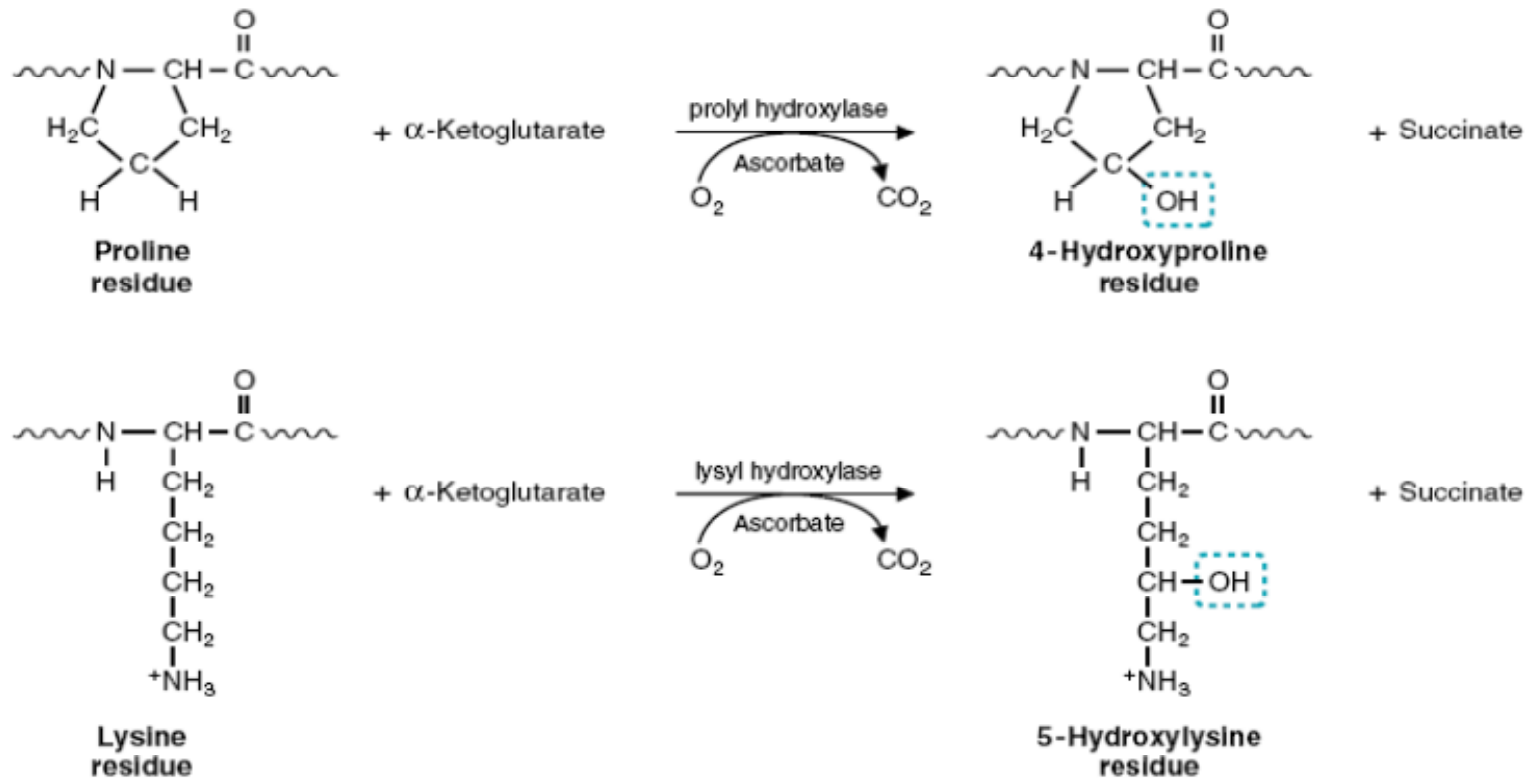
Svi su izgrađeni od tri polipeptidna lanca koji su uvijeni jedan oko drugog.

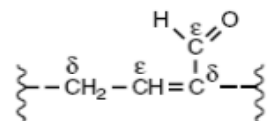
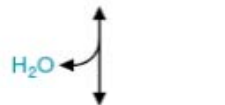
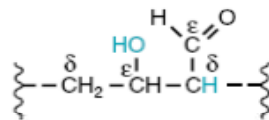
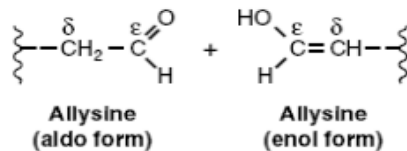
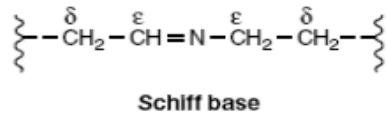
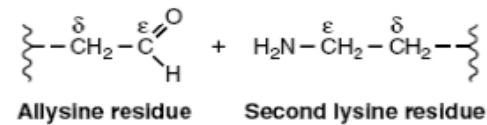
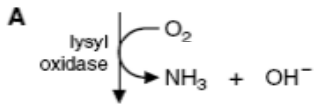
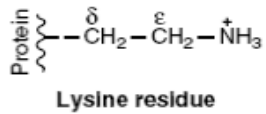
Table 49.1. Types of Collagen

Collagen Type	Gene	Structural Details	Localization
I	Col1A1-Col1A2	Fibrils	Skin, tendon, bone, cornea
II	Col2A1	Fibrils	Cartilage, vitreous humour
III	Col3A1	Fibrils	Skin, muscle, associates with type I collagen
IV	Col4A1-Col4A6	Nonfibrillar, mesh collagen	All basal laminae (basement membranes)
V	Col5A1-Col5A3	Small fibers, N-terminal globular domains	Associates with type I collagen in most interstitial tissues
VI	Col6A1-Col6A3	Microfibrils, with both N and C-terminal globular domains	Associates with type I collagen in most interstitial tissues
VII	Col7A1	An anchoring collagen	Epithelial cells; dermal-epidermal junction
VIII	Col8A1-Col8A2	Nonfibrillar, mesh collagen	Cornea, some endothelial cells
IX	Col9A1-Col9A3	Fibril-associated collagens with interrupted triple helices (FACIT); N-terminal globular domain	Associates with type II collagen in cartilage and vitreous humour
X	Col10A1	Nonfibrillar, mesh collagen, with C-terminal globular domain	Growth plate, hypertrophic and mineralizing cartilage
XI	Col11A1-Col11A3	Small fibers	Cartilage, vitreous humor
XII	Col12A1	FACIT	Interacts with types I and II collagen in soft tissues
XIII	Col13A1	Transmembrane collagen	Cell surfaces, epithelial cells
XIV	Col14A1	FACIT	Soft tissue
XV	Col15A1	Endostatin-forming collagen	Endothelial cells
XVI	Col16A1	Other	Ubiquitous
XVII	Col17A1	Transmembrane collagen	Epidermal cell surface
XVIII	Col18A1	Endostatin-forming	Endothelial cells
XIX	Col19A1	Other	Ubiquitous

- Prekursor kolagena (I) je prokolagen I. To je trostruki heliks izgrađen od tri polipeptidna (pro- α) lanca, koji su spiralno obmotani jedan oko drugog.
- Polimerizacijom molekula kolagena (I) nastaju kolagena vlakna koja obezbeđuju čvrstinu vezivnog tkiva. Pojedinačno, svaki polipeptidni lanac se sastoji od oko 1000 amino kiselinskih ostataka.
- Tri polipeptidna lanca su međusobno povezana međulančanim vodoničnim vezama. U svakom namotaju (obrtu) heliksa se nalaze tri amino kiseline, pri čemu se svaka treća amino kiselina nalazi u bliskom kontaktu sa drugom dva polipeptidna lanca. Jedino glicin, kao amino kiselina koja nema bočni lanac, odgovara ovom položaju, što znači da je u stvari svaka treća amino kiselina upravo glicin.
- Tako se kolagen može prikazati kao polimer ponovaka Gly-X-Y pri čemu je Y najčešće prolin ili hidroksiprolin a X bilo koja druga amino kiselina kolagena.

Posttranslaciona modifikacija prolina i lizina u zrelom kolagenu





Lysinonorleucine

Aldolna kondenzacija

Oksidacijom bočnog lanca lizina nastaje aldehyd-alizin. Ovaj aldehyd formira kovalentne veze između vlakana kolagena. Alizin jednog lanca kolagena reaguje sa amino grupom lizina drugog lanca kolagena i formira kovalentnu Šifovu bazu, koja se prevodi u stabilniju-kovalentnu vezu.

Između dva ostatka alizina, može doći do aldolne kondenzacije pri čemu nastaje lizinorleucin.

- Kolagen tip I, II i III formiraju fibrile koji se povezuju u velika nerastvorna vlakna.
- Ova vlakna su stabilizovana unakrsnim kovalentnim vezama koje se formiraju između ostataka lizina susednih fibrila.
- Aranžman fibrila daje različite osobine različitim individualnim tkivima. Tetive npr. sadrže kolagena fibrilarna vlakna koja su postavljena paralelno osnovnoj osi tetive, što obezbeđuje tetivi potrebnu čvrstinu.

SINTEZA KOLAGENA

- Kolagen se sintetiše na EPR kao **preprokolagen**. I dalje unutar EPR, od preprokolagena, odvajanjem odgovarajućih signalnih sekvenci, nastaje prokolagen.
- **Prokolagen** se transportuje u Goldži aparat. Tu dolazi do povezivanja tri prokolagena molekula formiranjem međumolekulskih disulfidnih mostova na C-terminalnom kraju. Na ovaj način, tri molekula prisutna na različitim lancima prokolagena se postavljaju u odgovarajući položaj da bi se formirala spiralna struktura trostrukog heliksa. On se formira od COOH kraja prema NH₂ kraju, formirajući **tropokolagen**.
- Tropokolagen sadrži segmente trostrukog heliksa između dva globularna kraja (N- i C- terminalni kraj). Tropokolagen se sekretuje van ćelije, gde se dejstvom vanćelijskih proteaza uklanjaju odgovarajući delovi.
- Tako nastaje **kolagen**, koji zauzima svoje mesto u vanćelijskom matriksu.

ELASTIN

Elastin je glavni protein prisutan u elastičnim vlaknima. Nalazi se u vanćelijskom matriksu vezivnog tkiva glatkih mišića, endotelnih i mikrovaskularnih ćelija, hondrocita i fibroblasta.

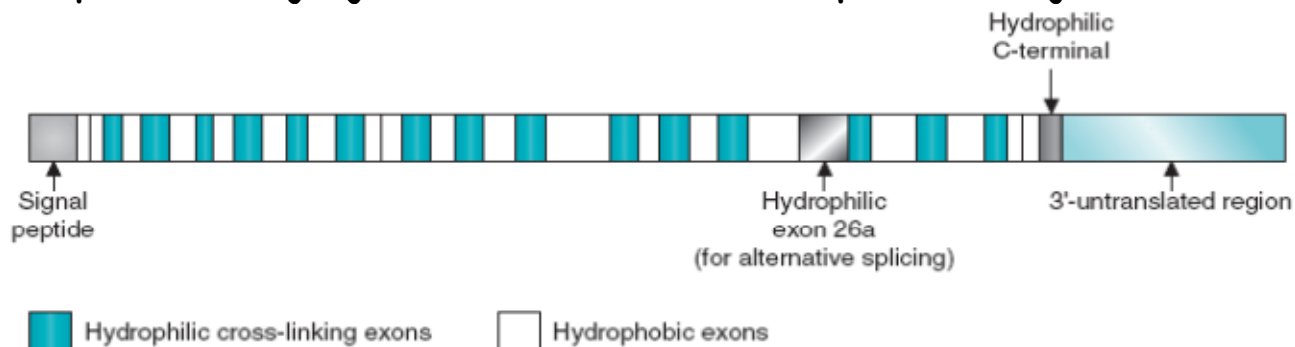
Pored elastina, elastična vlakna sadrže i mikrofibrile sastavljene iz brojnih kiselih glikoproteina od kojih su najznačajniji fibrilin 1 i fibrilin 2.

TROPOELASTIN- Elastin ima amorfnu, nerastvornu unakrsno povezanu strukturu.

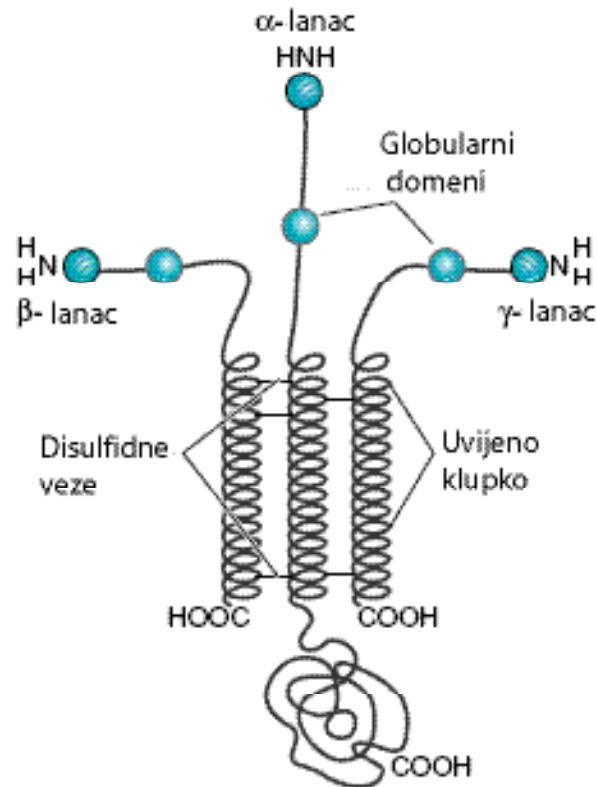
Njegov prekursor, tropoelastin, je rastvorljiv i sintetizira se na granuliranom EPR. Tropoelastin sadrži dva tipa domena koji se smenjuju. Jedan se sastoji iz hidrofилnih sekvenci koje su bogate u sadržaju lizina i alanina. Drugi domen se sastoji od hidrofobnih sekvenci bogatih u valinu, prolinu i glicinu, koje se često nalaze u redosledu VPGVG ili VGGVG. Protein sadrži oko 16 regiona unutar svakog domena, koji se ponavljaju unutar celog proteina.

Kada se sekretuje van ćelije, tropoelastin se postavlja u ravan mikrofibrila, i lizil oksidaza inicira reakciju kojom se molekule elastina unakrsno povezuju a preko ostataka lizina unutar hidrofobnih ponavljajućih regiona.

Ovo unakrsno povezivanje je isto kao i unakrsno povezivanje unutar kolagena.



LAMININ



Posle kolagena tipa IV, laminin je najzastupljeniji protein bazalne lamine. Laminin povezuje kolagen IV sa drugim molekulima vanćelijskog matriksa kao i molekulima prisutnim na površini ćelije i na ovaj način dodatno doprinosi održavanju strukture.

Protein laminin je heterotrimer sastavljen iz tri različite subjedinice α , β i γ . Postoji pet različitih proteina α ($\alpha 1$ - $\alpha 5$), i po tri različita proteina β ($\beta 1$ - $\beta 3$) i γ ($\gamma 1$ - $\gamma 3$). Zahvaljujući ovome, postoji mogućnost formiranja 45 različitih kombinacija ovih subjedinica. Do sada je definisano samo 12, koje su okarakterisane kao laminin 1-12.

Lamini 1 je sastavljen iz $\alpha 1\beta 1\gamma 1$ i tipičan je predstavnik ove klase proteina.

Osnovu molekula laminina čini α subjedinica koja povezuje sve tri subjedinice i formira rigidnu strukturu. Sva tri lanca imaju produžetke na svojim N-terminalnim krajevima. Samo α lanac ima i produžetak na svom C-terminalnom kraju koja omogućava lamininu da se vezuje za druge strukture vanćelijskog matriksa (kolagen, sulfatisani i proteoglikani).

Biosinteza Laminina

Kao i ostali proteini koji se sekretuju van ćelije, laminin se sintetise na granuliranom EPR (usmerava ga signalna sekvenca).

Asocijacija pojedinačnih lanaca se dešava u Goldži mreži, pre nego se protein sekretuje van ćelije.

Pošto se sekretuje van ćelije, produžetci amino terminalnih delova stimulišu samo- asocijaciju, a takođe učestvuju i u povezivanju laminina sa ostalim komponentama EĆM.

Disulfidni mostovi nastaju kako bi stabilizovali strukturu lamina (trimer) i posttranslaciona modifikacija ovog proteina je mnogo manje izražena u odnosu na kolagen i elsatin.

INTEGRINI

Integrini predstavljaju glavne ćelijske receptore za proteine vanćelijskog matriksa. Na ovaj način oni predstavljaju vezu između unutarćelijskog skeleta same ćelije (pre svega sistem aktinskih mikrofilamenata) i vanćelijskih proteina, kao što su fibronektin, kolage ili laminin. Pored ove uloge u stabilizaciji same ćelije u vanćelijskom matriksu, oni su uključeni u različite ćelijske signale.

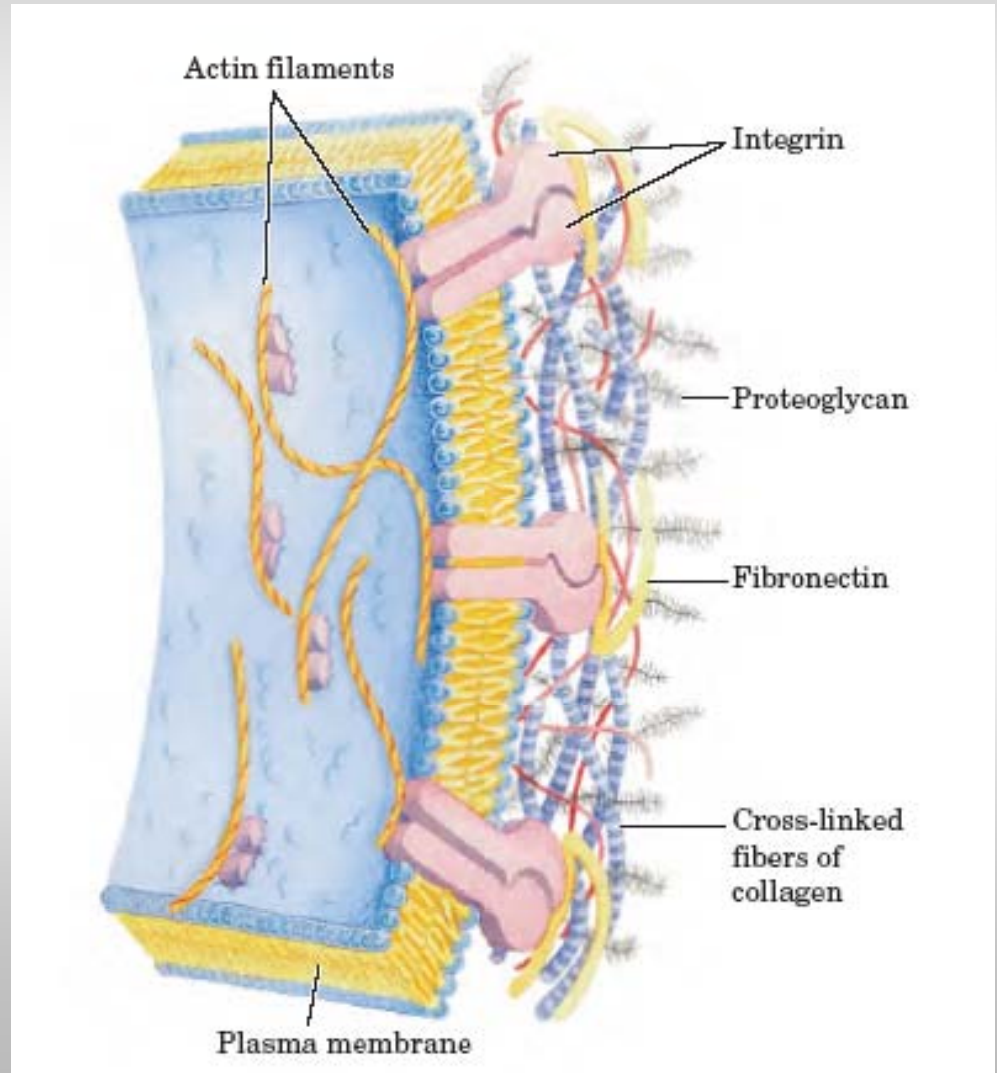
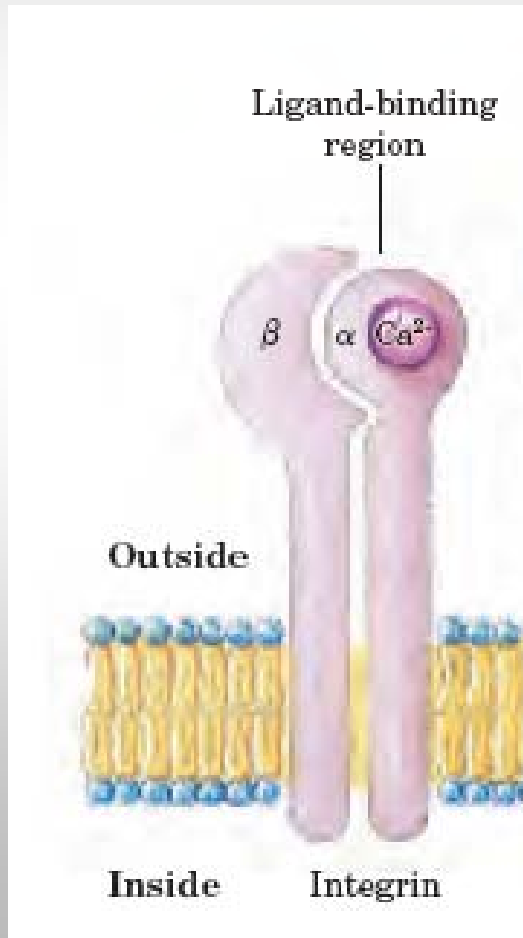
Integrini se pored aktivacije u inflamaciji takođe mogu aktivirati mehanizmom „unutra-spolja“ (inside -out), gde se aktiviraju pod dejstvom unutarćelijskog signala, ili „spolja-unutra“, gde vezivanje za vanćelijski deo molekula integrina, inicira unutarćelijske signale.

Kod integrina kojim se ćelije vezuju za komponente vanćelijskog matriksa, aktivacija specifičnih integrina dovodi do migracije aktiviranih ćelija kroz vanćelijski matriks. Ovaj mehanizam je aktivan u periodu rasta, diferencijacije ćelija a i u metastaziranju malignog u susedna zdrava tkiva.

Integrini su izgrađeni od dve subjedinice, α i β .

Postoji 18 različitih α i 8 različitih β subjedinica.

Do sada su definisana 24 različita α/β dimera.

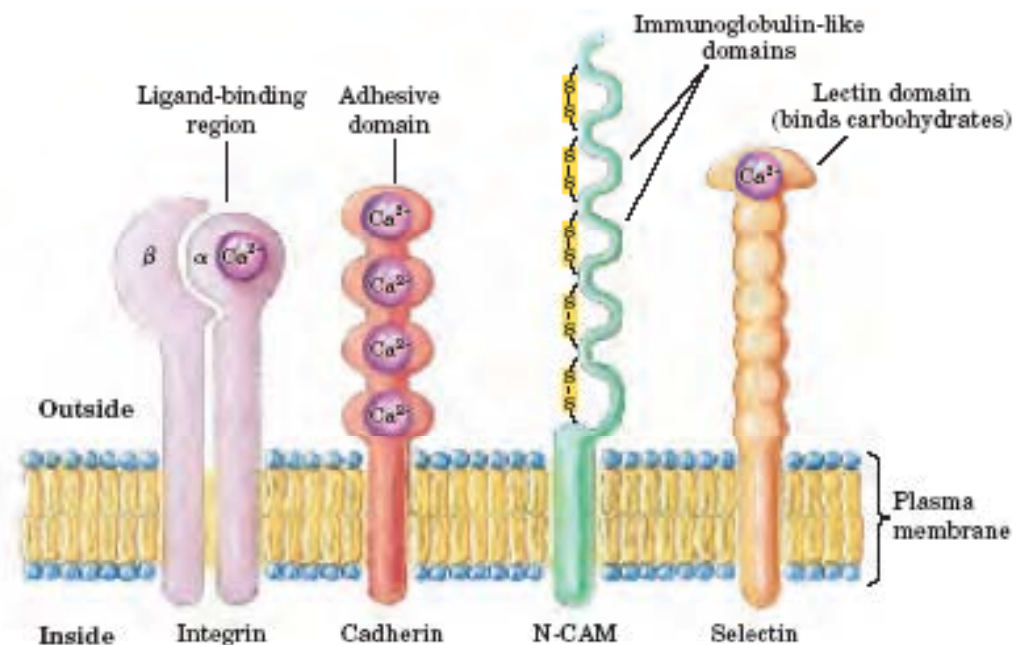


Najmanje tri familije proteina plazma membrane mogu biti uključena u međučelijsku adheziju

Kadherini podležu homofilnoj ("sa istom vrstom proteina") interakciji sa identičnim molekulom kadherina na susednoj ćeliji.

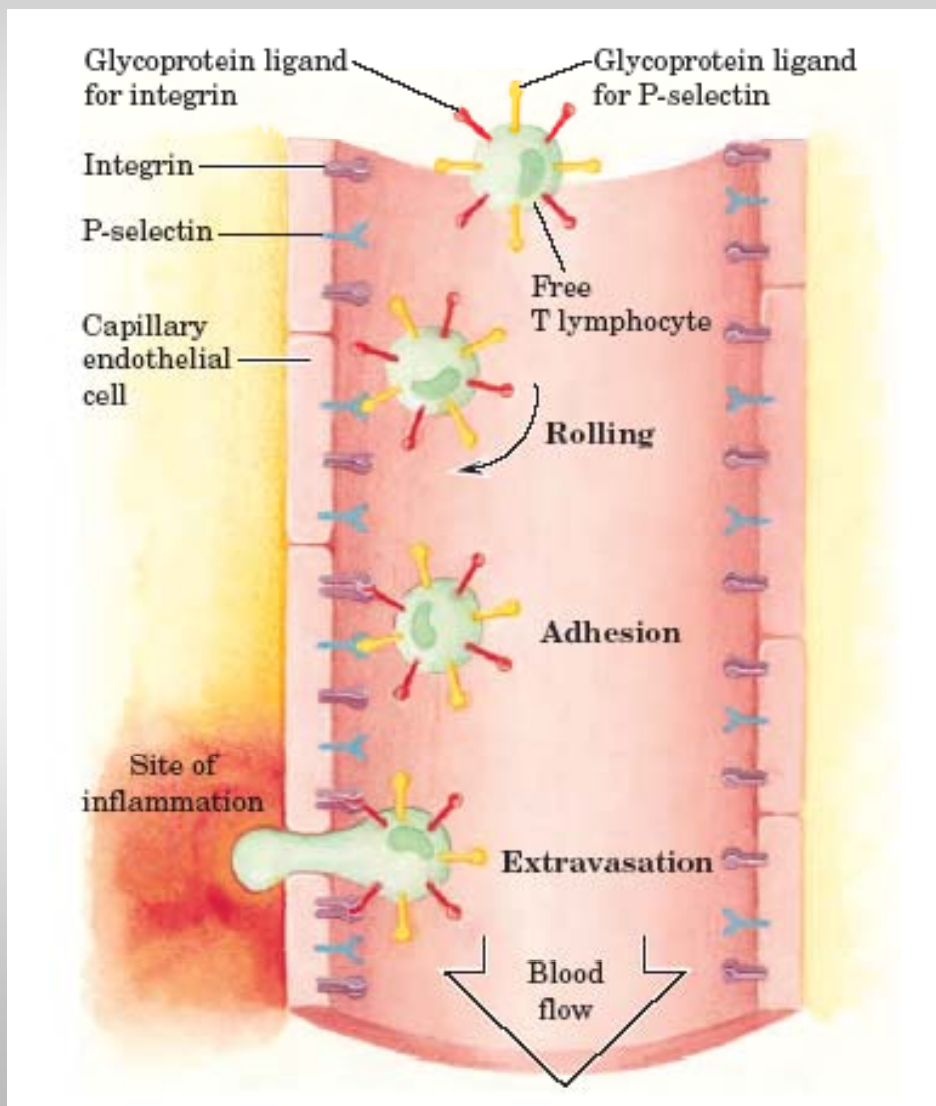
Imunoglobulinu slični proteini mogu da uđu u homofilne ili heterofilne interakcije sa proteinima istog ili različitog tipa (integrin) na susednoj ćeliji.

Selektini - njihov vanćelijski domen u prisustvu jona Ca^{2+} , se vezuje za specifičan polisaharid na površini susedne ćelije. Selektini se nalaze na različitim tipovima ćelija krvne loze kao i na endotelnim ćelijama krvnih sudova.



Neki od integrina su inaktivni, npr integrini leukocita, pošto ove ćelije moraju slobodno da se kreću kroz cirkulaciju. Međutim, u slučaju infekcije, ćelije inficiranog regiona oslobađaju citokine koji aktiviraju integrine leukocita što im omogućava da se vežu za endotelne ćelije krvnog suda u regionu infekcije.

Kretanje T limf je usporeno intereakcijama sa samih T limf preko svog glikoproteinskog liganda sa molekulima P-selektina na membrani endotelnih ćelija kapilara. Zbog toga se T limf "kotrljaju" duž zida krvnog suda. Bliže mestu same inflamacije, dolazi do jačih intereakcija integrina koji se nalaze na površini ćelija kapilara i odgovarajućeg liganda na T limf što dovodi do njegove tešnje adhezije za zid kapilara. T limf se zaustavljaju u svom kretanju kroz lumen krvnog suda, i podležu ekstravazaciji pod dejstvom jačih signala koji dolaze iz samog centra inflamacije.



MATRIKSNE METALOPROTEINAZE

•Vanćelijski matriks sadrži seriju proteaza koje su poznate kao metaloproteinaze matriksa. To su proteaze koje sadrže jon Zn, koji odgovarajućim pozicioniranjem vode učestvuje u samoj reakciji proteolize. Do sada je definisamo 23 različita tipa humanih metaloproteinaza, koje mogu da razlažu sve proteine venćelijskog matriksa, pa i kolagen i laminin. Zbog toga su one prisutne u formi propeptida, koji nema enzimsku aktivnost. Za ovo je odgovoran cistein koji se peptidnom vezom vezuje za Zn u aktivnom mestu, onemogućavajući proteolitičku aktivnost. Uklanjanje propeptida je neophodno da bi se metaloproteinaze aktivirale. Kada se jednom aktiviraju, u mogućnosti su da same sada aktiviraju druge metaloproteinaze.

•Regulacija aktivnosti metaloproteinaza je veoma kompleksna i ona uključuje regulaciju transkripcije, proteolitičku aktivaciju, inhibiciju cirkulišućim proteinom α 2-makroglobulinom i kontrolu aktivnost grupom proteina koji su poznati kao tkivni inhibitori metaloproteinaza. **Veoma je važno da sinteza i ovih inhibitora i samih metaloproteinaza bude paralelno regulisana jer u suprotnom može doći do poremećaja kao što su maligne bolesti i ateroskleroza.**