KACPER ŁUCZAK, DOROTA HOJA-ŁUKOWICZ

*Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
E-mail: kacper.luczak99@gmail.com
dorota.hoja-lukowicz@uj.edu.pl*

CUKRY JAKO TRZECI NAPĘD EWOLUCJI*

TEORIA GLIKO-ŚWIATA

W toku ewolucji szeroko pojęte węglowodany (inaczej cukry) stanowiły (i dalej stanowią) źródło energii i pokarmu dla organizmów od – najbardziej mikroskopijnych do największych, niezwykle złożonych. Stanowiły one także barierę dla promieniowania ultrafioletowego (UV) i toksycznych rodnikowych form tlenu. Co jednak najważniejsze, brały udział w tworzeniu i budowaniu najbardziej skomplikowanych struktur u rozwijających się, ewoluujących organizmów.

Węglowodany wydawały się tak ważne, że w 2008 r. zaproponowano teorię gliko-świata twierdzącą, iż to one miały być pierwotną cząsteczką życia, stanowiącą prazródło ewolucji wszystkich żyjących dzisiaj organizmów (STERN i JEDRZEJAS 2008). Teoria ta nawiązuje do okresu prebiotycznego (ponad 4,2 miliarda lat temu), gdy Ziemia była jednym wielkim jeziorem najbardziej podstawowych związków chemicznych, takich jak formaldehyd czy wysokoenergetyczne polifosforany. Cząsteczki formaldehydu spontanicznie polimeryzowały, po czym proces biochemiczny zwany kondensacją aldolową prowadził do wytworzenia prostych węglowodanów. Te, w wyniku działania wysokoenergetycznych fosforanów, tworzyły polimery o właściwościach samoreplikujących się. Były to analogi kwasu nukleinowego, które mogły tworzyć ze sobą stabilne pary Watsona-Cricka, wykazujące wysoką, lecz nie absolutną wierność replikacyjną. Właściwość ta umożliwiła zmiany

ewolucyjne, mogące dać początek powstaniu świata opartego na RNA. Ówczesne środowisko, a także specyficzne właściwości i struktury węglowodanów, sprzyjały dodatkowo powstawaniu ich najstabilniejszych form. Mogły więc stanowić bazę dla coraz bardziej złożonych, przyszłych związków chemicznych, które budują współczesne komórki i cały otaczający nas świat. Przykładem mogą być proste homopolimery polisacharydów, czyli polimery zbudowane z identycznych monocukrów, jak celuloza (polimer glukozy) u roślin i chityna (polimer glukozaminy), która dziś buduje ścianę komórkową grzybów i szkielet zewnętrzny stawonogów. Tak jak teraz składniki kwasów nukleinowych, deoksyryboza i ryboza, chronią DNA oraz RNA, tak we wczesnej fazie ewolucji chityna umożliwiała ochronę cennej informacji genetycznej, zakodowanej w kwasach nukleinowych, przed jej degradacją pod wpływem promieniowania UV, przenikającego do ubogiej jeszcze w tlen atmosfery ziemskiej. Mocnym poparciem dla teorii gliko-świata mogą być cyklodekstryny, czyli oligosacharydy zbudowane z reszt glukozy, tworzące strukturę cykliczną w kształcie ściętego stożka. Co ważne, w przypadku cukrów struktury cykliczne są bardziej uprzywilejowane termodynamicznie niż ich liniowe polimery. Dodatkowo, wewnątrz stożka ma charakter hydrofobowy, a jego część zewnętrzna wykazuje właściwości hydrofilowe, ułatwiające rozpuszczanie cyklodekstryn w wodzie. Hydrofobowe wnętrze cyklodekstryn ma zdolność inicjowania lub

Słowa kluczowe: węglowodany, glikobiologia, glikozylacja, cukry, ewolucja

*Powstanie artykułu było wsparte z funduszy Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (project badawczy numer N18/DBS/000007).

przyspieszania specyficznych reakcji biochemicznych, gdyż tworzy energetycznie stabilne kompleksy z różnorodnymi cząsteczkami organicznymi (np. rybonukleotydy), ważnymi z perspektywy ewolucyjnej. Właściwości katalityczne cyklodekstryn są podobne do odkrytych dla katalitycznych rybozymów (RNA o właściwościach katalitycznych), co mogłoby wspierać koncepcję, że gliko-świat poprzedzał świat RNA (STERN i JEDRZEJAS 2008).

Nawet gdybyśmy nie zgadzali się z teorią gliko-świata, węglowodany nadal pozostają niezwykle ważne w kontekście ewolucyjnym. Są one podstawowym budulcem najważniejszych biochemicznych cząsteczek – kwasów nukleinowych, do których należy DNA i RNA. To w nich zakodowane jest to, jacy jesteśmy: jak mamy wyglądać, w jaki sposób mają funkcjonować określone części naszego organizmu. Gdyby nie węglowodany, te cząsteczki mogłyby nigdy nie powstać, a zatem także i my.

O JAKICH CUKRACH MOWA?

Węglowodany można klasyfikować stosując różne kryteria, lecz na użytek niniejszego artykułu zostały one podzielone ze względu na ich złożoność strukturalną: monosacharydy, oligosacharydy i polisacharydy. Te pierwsze to inaczej cukry proste – ze względu na obecność grup funkcyjnych można je określić jako polihydroksyaldehydy lub polihydroksyketony. Bakterie i archeony, mimo że są najmniejszymi organizmami, wykazują największą różnorodność monosacharydów; zawierają niemal 100 różnych monosacharydów. Wśród eukariontów, rośliny wykazują największą różnorodność z około 25 monosacharydami. U zwierząt znaleziono tylko 11 różnych monosacharydów, z czego 8 podstawowych to: glukoza (Glc), galaktoza (Gal), mannoza (Man), N-acetyloglukozamina (GlcNAc), N-acetylogalaktozamina (GalNAc), fuktoza (Fuc), ksyliza (Xyl) i kwas sjałowy (SA). Monosacharydy, łącząc się ze sobą wiązaniami glikozydowymi, tworzą łańcuchy cukrowe. W przypadku, gdy łańcuch cukrowy zbudowany jest z 2–10 reszt monosacharydów mamy do czynienia z oligosacharydem, a gdy tych reszt jest co najmniej 11 mówimy o polisacharydach. Oligosacharydy, na drodze skomplikowanego biochemicznego procesu zwanego glikozylacją, mogą być dołączane do białek (glikoproteiny) lub tłuszczów (glikolipidy). Takie właśnie rozbudowane reszty cukrowe białek i tłuszczów nazywamy glikanami. To właśnie one były, są, a także będą najważniejsze w kontekście ewolucyjnym, ponieważ ich złożona struktura przestrzenna posiada dużą pojemność informacyjną, pełniącą rolę swego glikokodu. Pojemność

informacyjna cukrów złożonych nieporównywalnie przewyższa pojemność informacyjną nierozgałęzionych biopolimerów, jakimi są białka i kwasy nukleinowe. Na przykład, łącząc ze sobą dwie cząsteczki glukozy można zbudować do dziewięciu różnych disacharydów, podczas gdy dwa aminokwasy i dwie zasady DNA mogą tworzyć tylko pojedynczy dipeptyd i dinukleotyd. Dołączenie kolejnych cząsteczek monocukru powoduje lawinowy wzrost możliwych do utworzenia struktur cukrowych, z których każda wykazuje odmienną funkcjonalność. W artykule tym więc słowo „cukier” powinno być odczytywane jako „oligosacharyd” lub inaczej „glikan”.

NIE MA ŻYCIA BEZ CUKRÓW

W jądrze komórkowym znajduje się DNA pełniący rolę nośnika informacji genetycznej, która jest niezbędna, aby doszło do podziału komórki i podtrzymania życia. Mimo to, istnieją w ludzkim organizmie komórki, które nie potrzebują do życia jądra komórkowego. Są to erytrocyty, czerwone komórki krwi, których zadaniem jest dostarczanie tlenu do wszystkich pozostałych komórek ciała. Zastanawiającym jest, że istnieją komórki żyjące bez jądra komórkowego (czyli *de facto* bez jakiegokolwiek materiału genetycznego), ale nie odkryto dotychczas żadnej komórki zwierzęcej żyjącej bez glikanów na swojej powierzchni (PAVELKA i ROTH 2010).

Powierzchnia każdej komórki u eukariontów okryta jest grubym płaszczem glikanów, które przyłączone są do budujących błonę komórki białek i tłuszczów. Obecność tych reszt cukrowych jest na tyle ważna, że mogła być wręcz kluczowa, gdy mowa o powstawaniu coraz bardziej skomplikowanych struktur i organizmów. Ten cukrowy płaszcz, zwany inaczej glikokaliksem (Ryc. 1), jest

Ryc. 1. Mikrograf elektronowy o wysokim powiększeniu obrazujący fragment glikokaliksu mikroskopów jelitowych kirystka spiżowego (*Corydoras aeneus*). Na powierzchni mikroskopów widoczna jest bardzo gęsta sieć reszt cukrowych, wystających w stronę środowiska zewnętrznego.

tak specyficzny dla danej komórki jak odciśnięcie palca i stanowi miejsce rozpoznawania i interakcji komórki z jakąkolwiek inną strukturą, która do tej komórki się zbliża – niezależnie od tego, czy jest to inne białko, inna komórka czy nawet inny mikroorganizm. Silnie glikozylowane cząsteczki adhezyjne znajdujące się w glikokaliksie umożliwiają właściwym komórkom przyleganie do siebie i kierowanie ruchem komórek podczas rozwoju embrionalnego. Glikokaliks obecny jest u organizmów eukariotycznych już od czasów powstania gąbek (najstarsze ewolucyjnie i najprostsze organizmy wielokomórkowe), które pojawiły się na Ziemi około 720 milionów lat temu (SHIELDS-ZHOU i współaut. 2012). W sytuacji, gdyby komórki były opłaszczane jedynie nagimi białkami (bez dołączonych do nich glikanów), organizm nie byłby zdolny uciec patogenowi, którego zadaniem jest przyłączenie się do tych cząsteczek powierzchniowych. W przeciwieństwie do cukrów, białka same w sobie nie tolerują zmian w swojej strukturze – zbudowane są z niezwykle specyficznej (zakodowanej w DNA) sekwencji aminokwasów, która naruszona spowodowałaby drastyczne zmiany w ich funkcji, a zarazem całej strukturze komórki. Dzięki obecności prawidłowo wykształconych glikanów na tych białkach oraz możliwości zmiany ich struktury przestrzennej, glikany tworzą swoisty parasol ochronny uniemożliwiający patogenowi związanie się z powierzchnią komórki i wnikięcie do jej wnętrza. Te właściwości glikokaliksu były kluczowe dla efektywnej ewolucji poprzez walkę z obcymi cząsteczkami i mikroorganizmami (BAKSHANI i współaut. 2018, MÖCKL 2020, DOGNÉ i FLAMION 2020).

POWSTANIE WIELOKOMÓRKOWEGO ŻYCIA

Istnieją dwie teorie genezy organizmów wielokomórkowych. Jedna mówi, że życie wielokomórkowe powstało wówczas, gdy pojedyncze komórki zaczęły łączyć się ze sobą tworząc symbiotyczne kolonie. Druga natomiast mówi, że życie wielokomórkowe powstało, kiedy podczas podziału pojedynczej komórki nie doszło do rozłączenia komórek potomnych (SACHS 2008). Niezależnie od tego, która teoria jest bardziej prawdziwa wiadomo, iż cukry miały ogromny udział w postawianiu coraz bardziej skomplikowanych struktur i organizmów. A jest tak dlatego, że glikoproteiny i proteoglikany (białka z dołączonymi glikozaminoglikanami) są składnikami macierzy pozakomórkowej (ang. the extracellular matrix, ECM), która jest niezbędna dla funkcjonowania organizmów wielokomórkowych (HALLMANN i KIRK 2000). Cu-

krowe składniki ECM pełnią kluczową rolę w procesach takich jak: różnicowanie komórek, podział, przetrwanie i migracja. Właśnie te procesy stanowiły podstawę do budowy coraz bardziej skomplikowanych struktur, dzięki którym mogło powstawać coraz bardziej złożone, wielokomórkowe życie.

Wraz z powstaniem organizmów wielokomórkowych oraz macierzy pozakomórkowej, wypełnionej gamą różnorodnych glikanów, cukry nie zakończyły swojej roli w ewolucji. Glikany przejęły kontrolę nad komunikacją pomiędzy komórkami i rozwojem organizmów wielokomórkowych poprzez regulowanie szlaków sygnałowych odpowiedzialnych za utrzymanie homeostazy i prawidłowy rozwój tych organizmów. Jednym z najważniejszych szlaków sygnałowych pomiędzy komórkami jest silnie konserwatywny szlak Notch. Dzięki niemu receptory błonowe Notch na jednej komórce oddziałują z ligandami prezentowanymi na innej, co docelowo wywołuje aktywację genów związanych z proliferacją i różnicowaniem komórki oraz warunkowaniem jej losu (KOPAN i ILAGAN 2009). Receptory Notch są glikoproteinami i aby poprawnie działały, ich domena zewnątrzkomórkowa musi ulec procesowi glikozylacji (PANDEY i współaut. 2020). Nieprawidłowo wykształcone reszty cukrowe zaburzają sygnalizację szlaku Notch, co powiązane jest z wieloma chorobami, w tym kilkoma postaciami raka, wadami naczyniowymi, stwardnieniem rozsianym i szeregiem zespołów zaburzeń rozwojowych (SPARROW i współaut. 2006, LI i współaut. 2013, SHAHEEN i współaut. 2013, BASMANAV i współaut. 2014, SERVIAN-MORILLA i współaut. 2016, TAKEUCHI i współaut. 2018).

Domena zewnątrzkomórkowa białek Notch zbudowana jest z wielokrotnie powtarzających się struktur podobnych do naskórkowego czynnika wzrostu EGF [ang. epidermal growth factor-like (EGF) repeats]. Struktury EGF stanowią miejsca wiązania monosacharydów takich jak: Fuc, Glc i GlcNAc. Do związanych monosacharydów mogą być dołączane inne reszty cukrowe. W wielu projektach naukowych badano wpływ struktury tych glikanów oraz miejsca ich występowania na białkach Notch na aktywację szlaku Notch. Okazało się, że w przypadku usunięcia trzech reszt fukozy ze specyficznych miejsc (EGF 12, 26 i 27) w mysim białku Notch1, aktywność sygnalizacyjna szlaku została zmodyfikowana. Deglikozylacja miejsca EGF 12 uniemożliwiła łączenie się ze specyficznymi cząsteczkami ligandu, zaburzając tym samym tworzenie i rozwój komórek odpornościowych T. Stwierdzono, że dołączenie reszt N-acetyloglukozaminy do reszt fukozy w powtórzeniach EGF 8, 9 i 12

odgrywa kluczową rolę w stymulacji szlaku Notch podczas tworzenia się żył skrzydłowych u muszki owocowej. Ponadto wykazano, że obecność glukozy w powtórzeniu EGF 28 mysiego białka Notch1 stabilizuje jego strukturę, co ułatwia wiązanie liganda i aktywację szlaku. Proces bardzo specyficznej glikozylacji białek Notch stał się więc kluczowy do poprawnego działania sygnalizacji międzykomórkowej w coraz bardziej skomplikowanych organizmach. Idąc tym tropem wykazano, że brak zdolności glikozylacji białek w organizmie wielokomórkowym (a więc także i ludzkim) jest letalny, czyli doprowadza do śmierci organizmu jeszcze podczas życia embrionalnego (TAKEUCHI i współaut. 2017).

DLACZEGO GLIKOZYLACJA MA WPŁYW NA EWOLUCJĘ?

Białka to cząsteczki, które nie tylko stanowią 20% całej masy ludzkiego ciała, ale także są kluczowe w pełnieniu niezwykle ważnych funkcji, niezbędnych do przetrwania organizmu. Ponadto, w pojedynczej komórce mogą być obecne nawet 42 miliony cząsteczek białkowych (HO i współaut. 2018). Prawie cały kodujący materiał genetyczny w komórce zawiera informację o tym, w jakiej kolejności poszczególne aminokwasy mają być ułożone w łańcuchu polipeptydowym białka. Skład ilościowy i jakościowy oraz kolejność ułożenia aminokwasów jest unikatowa dla każdego białka i determinuje jego strukturę przestrzenną; stąd poszczególne białka mogą pełnić odmienne funkcje. Mimo to, funkcjonowanie nagich białek jest ograniczone. Rozszerzenie funkcjonalności białka jest możliwe dzięki zachodzącym ko- i potranslacyjnie modyfikacjom chemicznym aminokwasów. W większości przypadków modyfikacje te mają charakter zmian dynamicznych i działają jako włączniki lub wyłączniki – modyfikują białko tak, aby je aktywować lub dezaktywować. Rewolucją ewolucyjną stała się glikozylacja, będąca przełomowym sposobem modyfikacji powstających białek. Okazuje się, że trwała obecność glikanów na białkach nie tylko modyfikuje strukturę i funkcję białek, ale również umożliwia im nabywanie nowych funkcji, które z pewnością mogły być kluczowe w procesie ewolucji. W przeciwieństwie do białek, biosynteza struktur cukrowych nie jest bezpośrednio zakodowana w pojedynczych genach, a jest raczej wynikiem działania setek współpracujących ze sobą genów kodujących białka zaangażowane w proces glikozylacji. Niemniej jednak był to tak ważny proces, że w niektórych przypadkach genetyczna odziedziczalność specyficznych struk-

tur glikanowych na białkach wynosiła 80% (LAUC i współaut. 2014a).

Przykładem wysoce odziedziczalnej i niezwykle ważnej kompozycji cukrów na białkach są glikany obecne na przeciwciałach klasy IgG – cząsteczkach, które są jednymi z najważniejszych broni naszego organizmu w zwalczaniu patogenów (nawet, gdy te silnie mutują). Przeciwciała IgG łączą się z komórkami NK (ang. Natural Killers) i rozpoznają specyficznie antygen na powierzchni komórki docelowej, co indukuje aktywację i degranulację komórek NK. Około 95% przeciwciał IgG posiada w ściśle określonym miejscu swojej struktury (region Fc) glikany zawierające resztę fukozy. Obecność fukozy zmienia strukturę IgG w taki sposób, że przeciwciała nie mogą przyłączyć się do komórek NK. Gdyby nie obecność tej fukozy, komórki NK mogłyby atakować inne komórki gospodarza, co doprowadziłoby do choroby autoimmunologicznej. Z drugiej strony, gdyby jednak 100% przeciwciał IgG było fukozylowanych, organizm utraciłby zdolność niszczenia nowotworowo zmienionych komórek, co z kolei mogłoby doprowadzić do rozwoju choroby. To zachowanie równowagi działania przeciwciał IgG razem z komórkami NK, dzięki obecności specyficznych cukrów, jest kluczowe w kontekście ewolucyjnym. Co więcej, gdy do przeciwciał IgG, w procesie glikozylacji, dołączany jest kwas sjałowy (pochodna monosacharydu mannozy), ich charakter zmienia się z prozapalnego na przeciwzapalny. Niezwykłym przykładem są osoby „Elite controllers”, czyli osoby, u których mimo infekcji wirusem HIV, nie dostrzega się objawów choroby AIDS. U tych osób wykryto przeciwciała specyficzne wobec wirusa HIV, charakteryzujące się zmniejszoną sjałilacją, galaktozylacją i fukozylacją regionu Fc. Brak tych reszt cukrowych przyczynia się do zwiększonego powinowactwa regionu Fc przeciwciał do jego receptora na komórkach NK. Zaktywowane komórki NK działają cytotoksycznie na komórki zakażone, co prowadzi do hamowania replikacji wirusa (HUNT i współaut. 2008, ACKERMAN i współaut. 2013).

W jaki sposób ewolucja dała możliwość stworzenia tak niesamowitego narzędzia jak glikozylacja? Jakie jest jej źródło? Odpowiedzią jest epigenetyka.

GLIKOZYLACJA JAKO SKRZYŻOWANIE WPŁYWÓW ŚRODOWISKA I GENÓW

W kontekście ewolucji zmiany środowiskowe mogły być pewnego rodzaju czynnikiem regulującym. Organizmy, będące w stanie uporać się z niekorzystnymi warunkami środowiska, mogły przeżyć i wydać na

świat płodne potomstwo, któremu przekazywały swoje cenne geny. Te cenne geny, często nowe, umożliwiające adaptacje do zmieniającego się otoczenia, mogły powstawać tylko dlatego, że w materiale genetycznym dochodziło do losowych zmian, często mutacji. Niestety, takie mutacje niezbyt często tworzą zmiany korzystne, a raczej wywołują zmiany chorobowe czy nawet śmierć osobnika. Proponowane jest więc, że oprócz losowych zmian na poziomie DNA i białek, stanowiących klucz do sukcesywnej ewolucji organizmów, istniały także kluczowe ewolucyjnie adaptacje epigenetyczne (czyli takie, które nie wynikają ze zmian i nie powodują zmian w materiale genetycznym) w formie m.in. procesu glikozylacji.

Największą przewagą wyższych organizmów eukariotycznych jest to, że obecność glikanów stworzyła szansę na powstanie nowych struktur bez zmiany i ingerencji w dziedziczny materiał genetyczny (LAUC i ZOLDOŚ 2010, LAUC i współaut. 2014a). Jak już wspomniano, większość modyfikacji białek wpływa na sposób ich włączania lub wyłączania, natomiast glikozylacja umożliwia trwałe dołączenie do białek glikanów, które mogą stanowić nawet 70% masy całej glikoproteiny, zmieniając drastycznie jej funkcję.

Możliwość zajścia takiego procesu oraz jego skutki mogą stanowić podwalinę do szerokiej gamy adaptacji epigenetycznych, które mogły stać się kluczowe w procesie ewolucji, zwłaszcza u wyższych organizmów eukariotycznych. W 2014 r. w jednym z artykułów naukowych, epigenetyczną regulację poprzez glikozylację nazwano dumnie mechaniką kwantową biologii, która rzekomo ma stanowić ostatni element układanki w kontekście ewolucyjnych pytań bez odpowiedzi (LAUC i współaut. 2014b).

Ze wszystkich modyfikacji powstałych w wyniku biosyntezy białek, najbardziej skomplikowaną i zaawansowaną jest glikozylacja. Za syntezę części cukrowych glikoprotein i glikolipidów odpowiadają setki enzymów, m.in. glikozylotransferazy i glikozydazy. Części te kodowane są przez tzw. gliko-geny. Aktywacja gliko-genów często regulowana jest przez modyfikację chromatyny (substancji, w której zawarty jest ściśle upakowany DNA nawinięty na białka zwane histonami) oraz modyfikację histonów. Te zmiany są odpowiedzią na sygnały środowiskowe, co w konsekwencji stanowi ogromny potencjał dla ewolucji życia wielokomórkowego. Ważne ponadto jest to, że wszelkie schematy ekspresji genów, które są wynikiem działania epigene-

Ryc. 2. Schemat reprezentujący uproszczoną drogę powstawania epigenetycznych adaptacji ewolucyjnych na bazie glikozylacji białek.

W wyniku działania sygnałów i bodźców ze środowiska zewnętrznego, regulowana jest aktywność gliko-genów, które z kolei umożliwiają tworzenie modyfikacji epigenetycznych (takich jak metylacja (Met), acetylacja (Ac) czy fosforylacja (P) histonów/DNA). To w konsekwencji zmienia aktywność enzymów, tworzących skomplikowane formy glikanów dołączonych do białek, których specyficzne łączenie i struktury zapisywane są podczas podziałów kolejnych komórek. W wyniku tego, adaptacje te zapisywane są przez linię komórek i dziedziczone są przez kolejne (wg LAUC i współaut. 2014, zmieniona).

tycznego są zapamiętywane, czyli dziedziczne podczas podziału komórki (Ryc. 2) (LAUC i współaut. 2014).

Przykładem tego, jak bardzo ważna była glikozylacja dla ewolucji wyższych organizmów eukariotycznych, jest np. mechanizm zapłodnienia u ssaków – kluczowy do przekazania cennych genów potomstwu, które będzie je przekazywać dalej. Ssacze plemniki są maskowane dzięki obecności kwasów sjałowych na swojej powierzchni, co uniemożliwia rozpoznanie ich jako obce w drogach rodnych samicy. Po udanej adaptacji plemnika do nowego środowiska konieczne jest usunięcie kwasów sjałowych, umożliwiające dojrzewanie plemnika i jego interakcję z komórką jajową (LAUC i współaut. 2014b). Interakcja ta jest gatunkowo specyficzna i zależy od obecności określonych łańcuchów cukrowych na receptorach zlokalizowanych w osłonce przejrzystej komórki jajowej. U człowieka są to struktury cukrowe typu Lewis x podstawione kwasem sjałowym (PANG i współaut. 2011).

Jak wcześniej wspomniano, glikany często tworzą pierwszą linię obrony przed obcymi najeźdźcami. Patogeny jednak nauczyły się wykorzystywać glikozylację gospodarza na różne sposoby, aby zapewnić sobie rozmnażanie się i przetrwanie. Patogeny zawsze były główną przyczyną śmiertelności ludzi, więc wywierały silną presję selekcyjną na ludzki genom. Doskonałym przykładem jest pierwotniak z rodzaju *Plasmodium* wywołujący malarię. Uważa się, że w wyniku presji *P. falciparum* (zarodźca malarii najbardziej zjadliwego dla człowieka) na powierzchni wielu typu komórek powstały glikany będące determinantami antygenowymi układów grupowych krwi, takich jak ABO lub P1PK. Mimo że antygeny cukrowe układu ABO nie uczestniczą w procesie wnikania zarodźców do komórek, to jednak biorą udział w wiązaniu zarażonych erytrocytów, na powierzchni których występuje białko produkowane przez merozoity zarodźca. Białko to rozpoznaje antygeny cukrowe A i B na powierzchni erytrocytów, płytek krwi i komórek śródbłonna, co ostatecznie chroni zakażone erytrocyty przed ich zniszczeniem w śledzionie. Stąd osoby o grupie krwi A i B mają mniejsze szanse przeżycia niż osoby z grupą O. Dlatego w regionach występowania malarii populacja ludzka wzbogacona jest w osobniki z grupą O (CZERWIŃSKI 2015). Jednak najbardziej krytycznym dla powodzenia inwazji jest etap adhezji merozoitów do powierzchni erytrocytu. Adhezja ta jest kontrolowana przez zależne i niezależne od reszty kwasu sjałowego interakcje pomiędzy wieloma ligandami pasożyta oraz swoistymi dla nich receptorami na komórkach gospodarza.

Sugeruje się, że wspólny przodek szympaniego zarodźca malarii (*P. reichenowi*) i ludzkiego zarodźca malarii (*P. falciparum*) preferencyjnie wiązał się do kwasu Neu5Gc (pochodna mannozy) obecnego na erytrocytach pracłowika i współczesnego mu przodka szympansa. Około 2,5-3 milionów lat temu w linii ludzkiej nastąpiła mutacja w genie *CMAH* (enzym kodowany przez ten gen przeprowadza kwas Neu5Ac do kwasu Neu5Gc) i zanik syntezy kwasu Neu5Gc, co umożliwiło ludzkim przodkom uwolnienie od malarii. Niestety ok. 10 000 lat temu, w wyniku mutacji pojawił się ludzki *P. falciparum*, który uzyskał zdolność wiązania Neu5Ac i zakażania ludzi, co można określić jako ewolucyjny wyścig zbrojeń (ZERKA i współaut. 2015).

Glikany umożliwiły również interakcje między osobnymi, współpracującymi ze sobą gatunkami i stworzenie superorganizmu. Wiele organizmów, w tym my, ludzie, jest w stanie trawić wiele różnych rodzajów pokarmu tylko dlatego, że w naszych jelitach żyją symbiotyczne bakterie. Pokryte są one specyficznym płaszczem cukrów, które uniemożliwiają rozpoznanie ich przez nasze komórki jako obce. Ta adaptacja symbiontów pozwoliła im na przetrwanie i przystosowanie się do środowiska gospodarza, umożliwiając współpracę i obustronne korzyści. Przykładów takich jest o wiele więcej (VARKI 2011, KOROPATKIN i współaut. 2012, FRANSOLET i współaut. 2012, DÍAZ i współaut. 2016).

CUKRY TO TAKŻE PRZEPIS NA SPRAWNĄ KOMUNIKACJĘ

Jednym z ważniejszych cukrów, gdy mówimy o sygnalizacji międzykomórkowej czy między organizmami, jest GlcNAc (czytaj: gluknak). Ten monosacharyd od dawna był znany jako składnik ściany komórkowej bakterii i grzybów, a w organizmach zwierzęcych wchodzi w skład glikozaminoglikanów obecnych w ECM oraz mucyn występujących na powierzchni komórek. Ostatnie badania wskazują, że GlcNAc pełni ważną rolę w przekazywaniu sygnałów pomiędzy otoczeniem a komórką oraz pomiędzy komórkami.

W przypadku badań na hodowlach różnych gatunków grzybów okazało się, że dodanie GlcNAc do pożywki powoduje przekształcenie komórek z pączkujących na strzępkowe. To wzbudziło zainteresowanie naukowców, którzy rozpoczęli badania genetyczne. Wyniki wskazały, że GlcNAc aktywuje dwa szlaki sygnalizacyjne. Dzięki jednemu z nich grzyby są zdolne nie tylko do tworzenia odmiennych struktur i do aktywacji czynników zjadliwości, ale także indukowane są zjawiska epigenetyczne, dzięki którym

możliwa jest zmiana niektórych cech grzybów – zwłaszcza tych, które stymulują rozmnażanie (mogłoby mieć to kluczowy wpływ na kontekst ewolucyjny) (NASEEM i współaut. 2012).

Podczas wzrostu bakterii ich ściana komórkowa ulega przebudowaniu i dochodzi do uwolnienia cząsteczek GlcNAc do środowiska. Cząsteczki te mają zróżnicowany wpływ na bakterie, stymulując je do zwiększania lub zmniejszania produkcji czynników wirulencji, a w przypadku bakterii glebowych pobudzają je do produkcji antybiotyków.

W badaniach prowadzonych na różnych gatunkach bakterii wykazano, że GlcNAc indukuje sygnalizację wewnątrzkomórkową. Jednym z przykładów jest *Pseudomonas aeruginosa*, u której w wyniku reakcji na GlcNAc w wydzielinach płucnych (plwocinie) pacjentów z mukowiscydozą, dochodzi do wzrostu ekspresji genów związanych z katabolizmem GlcNAc. Co ciekawe, GlcNAc indukował również produkcję związku przeciwbakteryjnego, fenazyny. Zaproponowano, że indukowana przez GlcNAc stymulacja antybakteryjnego systemu obronnego u *P. aeruginosa* jest wynikiem tego, że bakteria ta żyje również w glebie, gdzie GlcNAc jest wskaźnikiem obecności innych bakterii lub grzybów na tym obszarze. Z kolei, znana bakteria *Escherichia coli* reaguje na obecność GlcNAc w organizmie gospodarza poprzez obniżenie produkcji tzw. włókien CURLI i wyrostków typu 1. Wykazano, że obniżenie produkcji tych struktur komórkowych obniża adhezyjne zdolności bakterii i tworzenie biofilmu na powierzchni komórek gospodarza, co w konsekwencji wspomaga rozprzestrzenianie się komórek *E. coli* w organizmie żywiciela. Ponadto, obecność GlcNAc może wpływać na procesy związane z utrzymaniem równowagi sygnalizacyjnej między bakterią a odpowiednią ze strony układu odpornościowego żywiciela, gdyż włókna CURLI i wyrostki typu 1 mają charakter prozapalny. Wykazano, że obniżenie poziomu tych prozapalnych struktur „usypia” mechanizmy obronne gospodarza. Wykształcenie skomplikowanych procesów sygnalizacyjnych, wywołanych obecnością GlcNAc w środowisku i jego oddziaływaniem na komórki bakteryjne wskazuje, że cząsteczki GlcNAc miały duży wpływ ewolucyjny w kontekście nabierania zjadliwości i komunikacji z komórkami żywiciela (KORGANKAR i WHITELEY 2011, NASEEM i współaut. 2012, NASEEM i KONOPKA 2015).

PODSUMOWANIE

W niniejszym artykule zaprezentowane i podkreślone zostało znaczenie pojawienia się

glikanów w kontekście ewolucyjnym. Stały się one fundamentem do budowy skomplikowanych struktur coraz bardziej złożonych, wielokomórkowych organizmów. Jednocześnie są one podstawą do sukcesywnej komunikacji pomiędzy komórkami i organizmami – tej korzystnej i niekorzystnej, niemniej jednak ważnej ewolucyjnie. Zdecydowanie stwierdzić można, że glikany stanowią klucz do sukcesywnej ewolucji oraz to, że bez ich obecności świat stanąłby w pewnym momencie w miejscu i wyglądałby o wiele prościej niż teraz.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują dr Dagmarze Podkowie z Zakładu Anatomii Porównawczej im. Henryka Hoyerera Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie za udostępnienie mikrografu elektronowego.

Streszczenie

Węglowodany stanowią najbardziej rozpowszechnioną klasę biocząsteczek na Ziemi, znacznie przewyższającą białka, lipidy i kwasy nukleinowe. Występują we wszystkich żywych organizmach, a nawet w wirusach. Różnorodność strukturalna i funkcjonalna węglowodanów nie ma sobie równych. W związku z tym, węglowodany pełnią wielorakie funkcje, działając jako: źródła energii (glukoza, laktoza), włókienka makrocząsteczkowe (celuloza, chityna), szkielet polimerowy (DNA, RNA) oraz jako cząsteczki informacyjne (części cukrowe glikoprotein). Węglowodany, po kwasach nukleinowych i białkach, stanowią trzecią rewolucję w ewolucji, będąc głównym motorem zmian epigenetycznych, które umożliwiają organizmom dostosowywanie się do środowiska zewnętrznego bez ingerencji w cenny materiał genetyczny. Pośredniczą one nie tylko w kluczowych dla komórki procesach molekularnych, ale także modulują interakcje komórka-macierz pozakomórkowa, komórka-komórka, a nawet organizm-organizm. Obecność węglowodanów i ich połączeń z białkami i lipidami, a także ich biosynteza oraz działanie stanowią kluczowy fragment, nieposkładanej jeszcze w całości, ewolucyjnej łamigłówki.

LITERATURA

- ACKERMAN M. E., CRISPIN, YU X., BARUAH K., BOESCH A. W., HARVEY D. J., DUGAST A.-S., HEIZEN E. L., ERCAN A., CHOI I., STREECK H., NIGROVIC P. A., BAILEY-KELLOGG C., SCANLAN C., ALTER G., 2013. *Natural variation in Fc glycosylation of HIV-specific antibodies impacts antiviral activity*. J. Clin. Invest. 123, 2183-2192.
- BAKSHANI R., MORALES-GARCIA A. L., ALTHAUS M., WILCOX M. D., PEARSON J. P., BYTHELL J. C., BURGESS J. G., 2018. *Evolutionary conservation of the antimicrobial function of mucus: a first defence against infection*. Biofilms Microbiomes 4, doi:10.1038/s41522-018-0057-2.
- BASMANAV F. B., OPRISOREANU A. M., PASTER-NACK S. M., THIELE H., FRITZ G., WENZEL J., GROSSER L., WEHNER M., WOLF S., FAGERBERG C., BYGUM A., ALTMÜLLER J., RÜTTEN A., PARMENTIER L., EL SHABRAWI-CAELEN L., HAFNER C., NÜRNBERG P., KRUSE R., SCHOCH S., HAN-

- NEKEN S., BETZ R. C., 2014. *Mutations in POGLUT1, encoding protein O-glucosyltransferase 1, cause autosomal-dominant Dowling-Degos disease*. Am. J. Hum. Genet. 94, 135-143.
- CZERWIŃSKI M., 2015. *Grupy krwi – minusy i plusy Czy antygeny grupowe krwi chronią nas przed chorobami zakaźnymi?* Post. Hig. Med. Dosw. 69, 703-722.
- DÍAZ E. M., SÁNCHEZ-ELORDI E., SANTIAGO R., VICENTE C., LEGAZ M. E., 2016. *Algal-Fungal Mutualism: Cell Recognition and Maintenance of the Symbiotic Status of Lichens*. J. Vet. Med. Res. 3, 1052-1057.
- DOGNÉ S., FLAMION B., 2020. *Endothelial glycoalyx impairment in disease focus on hyaluronan shedding*. Am. J. Pathol. 190, 768-780.
- FRANSOLET D., ROBERTY S., PLUMIER J.-C., 2012. *Establishment of endosymbiosis: The case of cnidarians and Symbiodinium*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 420-421, 1-7.
- HALLMANN A., KIRK D. L., 2000. *The developmentally regulated ECM glycoprotein ISG plays an essential role in organizing the ECM and orienting the cells of Volvox*. J. Cell Sci. 113, 4605-4617.
- HO B., BARYSHNIKOVA A., BROWN G. W., 2018. *Unification of protein abundance datasets yields a quantitative Saccharomyces cerevisiae proteome*. Cell Systems 6, 192-205.
- HUNT P. W., BRENCHELY J., SINCLAIR E., MCCUNE J. M., ROLAND M., PAGE-SHAFFER K., HSUE P., EMU B., KRONE M., LAMPIRIS H., DOUEK H. D., MARTIN J. N., DEEKS S. G., 2008. *Relationship between T cell activation and CD4+ T cell count in HIV-seropositive individuals with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy*. J. Infect. Dis. 197, 126-133.
- KOPAN R., ILAGAN M. X., 2009. *The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism*. Cell 137, 216-233.
- KORGAONKAR A. K., WHITELEY M., 2011. *Pseudomonas aeruginosa enhances production of an antimicrobial in response to N-acetylglucosamine and peptidoglycan*. J. Bacteriol. 193, 909-917.
- KOROPATKIN N. M., CAMERON E. A., MARTENS E. C., 2012. *How glycan metabolism shapes the human gut microbiota*. Nat. Rev. Microbiol. 10, 323-335.
- LAUC G., KRISTIĆ J., ZOLDOŠ V., 2014a. *Glycans – the third revolution in evolution*. Front. Genet. 5, doi: 10.3389/fgene.2014.00145.
- LAUC G., VOJTA A., ZOLDOŠ V., 2014b. *Epigenetic regulation of glycosylation is the quantum mechanics of biology*. Biochim. Biophys. Acta Gen. Sub. 1840, 65-70.
- LAUC G., ZOLDOŠ V., 2010. *Protein glycosylation – an evolutionary crossroad between genes and environment*. Mol. BioSyst. 6, 2373-2379.
- LI M., CHENG R., LIANG J., YAN H., ZHANG H., YANG L., LI C., JIAO Q., LU Z., HE J. i współaut., 2013. *Mutations in POFUT1, encoding protein O-fucosyltransferase 1, cause generalized Dowling-Degos disease*. Am. J. Hum. Genet. 92, 895-903.
- MÖCKL L., 2020. *The emerging role of the mammalian glycocalyx in functional membrane organization and immune system regulation*. Front. Cell Dev. Biol. 8, doi: 10.3389/fcell.2020.00253.
- NASEEM S., KONOPKA J. B., 2015. *N-acetylglucosamine regulates virulence properties in microbial pathogens*. PLoS Pathog 11, doi: 10.1371/journal.ppat.1004947.
- NASEEM S., PARRINO S. M., BUENTEN D. M., KONOPKA J. B., 2012. *Novel roles for GlcNAc in cell signaling*. Commun. Integr. Biol. 5, 156-159.
- PANDEY A., NIKNEJAD N., JAFAR-NEJAD H., 2020. *Multifaceted regulation of Notch signaling by glycosylation*. Glycobiology, doi: 10.1093/glycob/cwaa049.
- PANG P.-C., CHIU P. C. N., LEE C.-L., CHANG L.-Y., PANICO M., MORRIS H. R., HASLAM S. M., KHOO K.-H., CLARK G. F., YEUNG W. S. B., DELL A., 2011. *Human sperm binding is mediated by the Sialyl-Lewis^x oligosaccharide on the zona pellucida*. Science 333, 1761-1764.
- PAVELKA M., ROTH J., 2010. *Glycocalyx (Cell Coat)*. [W:] *Functional Ultrastructure*. PAVELKA M., ROTH J. (red.). Springer, Vienna. https://doi.org/10.1007/978-3-211-99390-3_84.
- SACHS J. L., 2008. *Resolving the first steps to multicellularity*. Trends Ecol. Evol. 23, 245-248.
- SERVIAN-MORILLA E., TAKEUCHI H., LEE T. V., CLARIMON J., MAVILLARD F., AREA-GOMEZ E., RIVAS E., NIETO-GONZALEZ J. L., RIVERO M.C., CABRERA-SERRANO M. i współaut., 2016. *A POGLUT1 mutation causes a muscular dystrophy with reduced Notch signaling and satellite cell loss*. EMBO Mol. Med. 8, 1289-1309.
- SHAHEEN R., AGLAN M., KEPPLER-NOREUIL K., FAQEIH E., ANSARI S., HORTON K., ASHOUR A., ZAKI M. S., AL-ZAHIRANI F., CUETO-GONZALEZ A. M. i współaut., 2013. *Mutations in EOGT confirm the genetic heterogeneity of autosomal-recessive Adams-Oliver syndrome*. Am. J. Hum. Genet. 92, 598-604.
- SHIELDS-ZHOU G. A., HILL A. C., MACGABHANN B. A., 2012. *The cryogenian period*. [W:] *The Geologic Time Scale*. GRADSTEIN F. M., OGG J. G., SCHMITZ M. D., OGG G. M. (red.). Elsevier Science Limited, 299-365.
- SPARROW D. B., CHAPMAN G., WOUTERS M. A., WHITTOCK N.V., ELLARD S., FATKIN D., TURNPENNY P.D., KUSUMI K., SILLENCE D., DUNWOODIE S. L., 2006. *Mutation of the LUNATIC FRINGE gene in humans causes spondylocostal dysostosis with a severe vertebral phenotype*. Am. J. Hum. Genet. 78, 28-37.
- STERN R., JEDRZEJAS M. J., 2008. *Carbohydrate polymers at the center of life's origins: The importance of molecular processivity*. Chem. Rev. 108, 5061-5085.
- TAKEUCHI H., YU H., HAO H., TAKEUCHI M., ITO A., LI H., HALTIWANGER R. S., 2017. *O-Glycosylation modulates the stability of epidermal growth factor-like repeats and thereby regulates Notch trafficking*. J. Biol. Chem. 292, 15964-15973.
- TAKEUCHI H., WONG D., SCHNEIDER M., FREEZE H. H., TAKEUCHI M., BERARDINELLI S. J., ITO A., LEE H., NELSON S. F., HALTIWANGER R. S., 2018b. *Variant in human POFUT1 reduces enzymatic activity and likely causes a recessive microcephaly, global developmental delay with cardiac and vascular features*. Glycobiology 28, 276-283.
- VARKI A., 2011. *Evolutionary forces shaping the Golgi glycosylation machinery: why cell surface glycans are universal to living cells*. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 3, doi: 10.1101/cshperspect.a005462.
- ZERKA A., KACZMAREK R., JAŚKIEWICZ E., 2015. *Ewolucja Plasmodium falciparum – z punktu widzenia zarodźca malarii*. Post. Hig. Med. Dosw. 69, 1519-1529.

KOSMOS Vol. 70, 1, 73–81, 2021

KACPER ŁUCZAK, DOROTA HOJA-ŁUKOWICZ

*Institute of Zoology and Biomedical Research, Jagiellonian University, 9 Gronostajowa Str., 30-387 Kraków,**E-mail: kacper.luczak99@gmail.com, dorota.hoja-lukowicz@uj.edu.pl*

SUGARS AS THE THIRD DRIVE OF EVOLUTION

Summary

Carbohydrates represent the most abundant class of biomolecules on earth, exceeding by far proteins, lipids and nucleic acids. They occur in all living organisms and even in viruses. The structural and functional diversity of carbohydrates is also unequalled. Accordingly, carbohydrates fulfill multiple roles, functioning as energy molecules (glucose, lactose), as macromolecular fibrils (cellulose, chitin), as polymeric backbone (DNA, RNA), and as information molecules (carbohydrate chains of glycoproteins). Glycans, right after nuclear acids and proteins, are the third revolution in evolution, being the prime motor of epigenetic changes that enable organisms to adapt to their environment without the interference into precious genetic material. They are the source of creating not only key molecular processes, but also both cell-cell and organism-organism interactions. Glycans appearance, their connection with proteins, their synthesis and function are the key element of an evolution puzzle that is yet to be put together.

Keywords: carbohydrates, glycobiology, glycosylation, sugars, evolution