

Received: 2005.12.13
Accepted: 2006.02.17
Published: 2006.03.28

Metabolizm glikozoaminoglikanów w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa

The metabolism of glycosaminoglycans in the course of Graves' disease

Katarzyna Winsz-Szczotka, Katarzyna Komosińska-Vashev, Krystyna Olczyk

Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej Śląskiej Akademii Medycznej, Sosnowiec

Streszczenie

Glikozoaminoglikany (GAGs), obejmujące siarczan chondroityny (CS), siarczan dermatanu (DS), siarczan heparanu (HS), heparynę (H), siarczan keratanu (KS) i kwas hialuronowy (HA), są linio- wymi, polianionowymi heteropolisacharydami. Łańcuchy GAGs, z wyjątkiem kwasu hialurono-wego, łączą się kowalencyjnie z białkami rdzeniowymi tworząc proteoglikany (PGs). PGs/GAGs występują zarówno w obrębie komórek – jako składowe błon komórkowych i ziarnistości wy- dzielniczych, a także stanowią komponent substancji podstawowej macierzy pozakomórkowej. Związki te uczestniczą w procesach adhezji, migracji i różnicowania komórek. Zmiany metabo- lizmu tych makrocząsteczek mogą leżeć u podstaw patogenezy licznych chorób, w tym choroby Gravesa-Basedowa.

Choroba Gravesa-Basedowa jest schorzeniem autoimmunologicznym, przebiegającym z nad- czynnością tarczycy, wolem, a dodatkowo z oftalmopatią i/lub z obrzękiem przedgoieniowym. Pozataarczycowe objawy choroby Gravesa-Basedowa, są związane z pobudzeniem fibroblastów, powodującym wzrost biosyntezy i gromadzenia glikozoaminoglikanów. Zaburzeniom przemian tkankowych GAGs towarzyszą ilościowe i jakościowe zmiany tych związków we krwi i moczu osób chorych. Mimo iż mechanizmy prowadzące do rozwoju zmian ocznych i/lub skórnych w prze- biegu choroby Gravesa-Basedowa nie zostały dokładnie poznane, to sugeruje się, iż są zależne zarówno od stanu układu immunologicznego, jak też i od stanu czynnościowego tarczycy.

Podsumowanie: Zmiany w metabolizmie GAGs, obserwowane w przebiegu choroby Gravesa- Basedowa, mogą się przyczyniać do ogólnoustrojowych zmian właściwości macierzy pozako- mórkowej tkanki łącznej.

Słowa kluczowe:

choroba Gravesa-Basedowa • glikozoaminoglikany • cytokiny • hipertyreoza

Summary

Glycosaminoglycans (GAGs), which include chondroitin sulfate (CS), dermatan sulfates (DS), heparan sulfate (HS), heparin (H), keratan sulfate (KS), and hyaluronic acid (HA), are a group of linear, polyanionic heteropolysaccharides. The GAGs chains, except for those of hyaluronic acid, are covalently attached to core proteins, forming proteoglycans (PGs). PGs/GAGs are present at the cellular level as elements of the cell membrane and intracellular granules. They are also com- ponents of the ground substance of the extracellular matrix. These macromolecules are involved in cell adhesion, migration, and proliferation. Alterations in GAGs metabolism may influence the pathogenesis of many disorders, including Graves' disease. Graves' disease is an autoimmune thy- roid pathology characterized by hyperthyroidism, thyroid hyperplasia, as well as ophthalmopat- hy and/or pretibial myxedema. The pathogenesis of these extrathyroidal manifestations involves

fibroblast activation and increased glycosaminoglycan synthesis and accumulation. Disturbances in GAGs metabolism in tissue are associated with qualitative and quantitative GAGs alterations in Graves' patients' serum and urine. Although the mechanisms leading to the development of orbital and/or skin complications in the course of Graves' disease have not been fully elucidated, it is postulated that they depend on both immunological disturbances and the hyperthyroid state.

Summary: The alterations in GAGs metabolism connected with Graves' disease could lead to systemic changes in the proprieties of the extracellular matrix.

Key words: Graves' disease • glycosaminoglycans • cytokines • hyperthyroidism

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/8963.pdf

Word count: 2233

Tables: 1

Figures: –

References: 69

Adres autorki: dr Katarzyna Winsz-Szczotka, Katedra i Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Lab, Śl.AM, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec; e-mail: winsz@slam.katowice.pl

Wykaz skrótów: **ADAM-TS** – dezintegrynowa i metaloproteinazowa domena z modulem trombospondyny (a disintegrin and metalloproteinase domain, with thrombospondin type-1 modules); **CS** – siarczan chondroityny (chondroitin sulfates); **DS** – siarczan dermatanu (dermatan sulfate); **GAGs** – glikozoaminoglikany (glycosaminoglycans); **HA** – kwas hialuronowy (hyaluronic acid); **HLA** – główny układ zgodności tkankowej człowieka (human leukocyte antigen); **ICAM** – międzykomórkowa cząstka adhezyjna (intercellular adhesion molecule); **IFN** – interferon (interferon); **IGF** – insulinopodobny czynnik wzrostowy (insulin-like growth factor); **IL** – interleukina (interleukin); **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostowy (platelet derived growth factor); **PGs** – proteoglikany (proteoglycans); **RFT** – reaktywne formy tlenu (reactive oxygen species); **T₃** – 3,5,3'-trijodotyronina (triiodothyronine); **TGF** – transformujący czynnik wzrostowy (transforming growth factor); **TNF** – czynnik martwiczy nowotworów (tumor necrosis factor); **TSH** – hormon tyreotropowy (thyroid stimulating hormone).

Choroby tarczycy należą do najczęściej występujących schorzeń na świecie [46]. Ocenia się, że u prawie 20% ludności Polski występują zaburzenia funkcji tarczycy, a chorobą Gravesa-Basedowa dotkniętych jest 0,14% Polaków. Choroba Gravesa-Basedowa ujawnia się u osób w każdym wieku, aczkolwiek w okresie do 10 roku życia występuje rzadko (częstość występowania u osób dorosłych, w stosunku do występowania u dzieci, wynosi około 12:1) [41,55]. Pomiędzy 20 a 40 rokiem życia, kobiety chorują pięciokrotnie częściej niż mężczyźni [2,51]. Przedstawiona różnica w zachorowalności na chorobę Gravesa-Basedowa, pomiędzy płcią żeńską a płcią męską, nie jest tak znacząca u dzieci oraz u osób po 65 roku życia [41,46].

PATOGENEZA I OBJAWY CHOROBY GRAVESA-BASEDOWA

Choroba Gravesa-Basedowa jest schorzeniem autoimmunologicznym, w przebiegu którego, krążące we krwi chorego przeciwciała przeciw receptorom TSH, pobudzają tarczycę do nadmiernej syntezy hormonów, tj. tyroksyny i trijodotyroniny [1,3,8,46,51]. We krwi osób z chorobą Gravesa-Basedowa występują również inne przeciwciała, rozpoznające różne struktury antygenowe komórek pęcherzykowych tarczycy. Do przeciwciał tych należą przeciwciała przeciw tyreoglobulinie, przeciw peroksydazie tarczycowej, a tak-

że przeciwciała przeciwbłonowe [3,6,39,46,55]. Ponadto, stwierdza się obecność przeciwciał skierowanych przeciwko determinantom antygenowym, obecnym na komórkach mięśni okołogałkowych oraz fibroblastach tkanki łącznej pozagałkowej [4]. Ostatnie z wymienionych przeciwciał nie uczestniczą prawdopodobnie w patogenezie choroby Gravesa-Basedowa, lecz są syntetyzowane wtórnie, w wyniku procesów zapalnych, toczących się w obrębie pozagałkowej tkanki łącznej [4].

Występujące w przebiegu omawianej choroby upośledzenie nadzoru immunologicznego, przejawia się osłabieniem aktywności limfocytów supresorowych – zdolnych w warunkach fizjologicznych do identyfikacji i niszczenia autoreaktywnych klonów limfocytów T pomocniczych, skierowanych przeciwko strukturalnym antygenowym komórkom pęcherzykowych tarczycy [39,41,46,65]. Przetrwałe, niezniszczone, nieprawidłowe klony limfocytów T aktywują proliferację i przekształcanie limfocytów B w komórki plazmatyczne – źródło autoprzeciwciał, a także pobudzają cytotoksyczne limfocyty, które z kolei bezpośrednio uszkadzają komórki tarczycy [1,41,65]. Dodatkowo, pod wpływem cytokin uwalnianych przez autoreaktywne limfocyty T pomocnicze, komórki tarczycy mogą się stać immunokompetentnymi i prezentować na swojej powierzchni an-

tygeny MHC klasy II, nasilając tym samym toczące się reakcje autoimmunologiczne [46,51,65].

Choroba Gravesa-Basedowa ujawnia się u osób predysponowanych genetycznie, często pod wpływem niekorzystnych czynników zewnętrznych, takich jak stres, nadmierna podaż jodu czy infekcje – zarówno wirusowe jak i bakteryjne [2,6,18,39,41]. Za uwarunkowaniem genetycznym omawianego schorzenia przemawiają: występowanie rodzinne, współistnienie z innymi chorobami autoimmunologicznymi, takimi jak cukrzyca typu 1, niedokrzwistość Addisona-Biermera, bielactwo, a także częste występowanie u chorych, posiadających antygeny zgodności tkanekowej HLA-DRw3, HLA-DRw5, HLA-B8, HLA-Bw35 [25,41,46,55].

Choroba Gravesa-Basedowa jest schorzeniem przewlekłym, przebiegającym z okresami zaostrzeń i remisji, o bardzo zróżnicowanym obrazie klinicznym [6,39,41]. W badaniu przedmiotowym zwraca uwagę niespokojne zachowanie chorych oraz niedobór masy ciała [41,46]. Skóra pacjentów jest gładka (jedwabista), ciepła, wilgotna. Swoistą zmianą w obrębie skóry jest tzw. obrzęk przedgoleniowy, stwierdzany u około 2–5% osób z chorobą Gravesa-Basedowa [11,39,46,47]. Obrzęk ten związany jest z gromadzeniem się glikozoaminoglikanów w skórze i tkance podskórnej [8,11,53,59]. Tarczycza osób chorych jest równomiernie powiększona, tworząca zwykle obficie unaczynione, obustronnie gładkie wole o spoistości mięsistej. W czasie badania palpacyjnego wyczuwa się tętnienie gruczołu, a także jego drżenie, spowodowane wzmożonym przepływem krwi, dobrze słyszalnym (przy osłuchiwaniu nad tarczycą) jako szmer naczyniowy [46]. Czynność serca osób chorych (miarowa lub niemiaraowa) jest wybitnie przyspieszona i nie zwalnia w spoczynku [41]. U części pacjentów, zwłaszcza starszych, występuje migotanie przedsionków [51]. Pojawiają się zaburzenia ciśnienia tętniczego krwi oraz zmiany tętna [41]. U większości chorych występuje charakterystyczne drobnofaliste i symetryczne drżenie mięśniowe [51]. Częstym powikłaniem choroby Gravesa-Basedowa są zmiany oczne, obrzękowo-naciekowe, określane jako oftalmopatia lub orbitopatia [25,34]. Oftalmopatia obrzękowo-naciekowa cechuje się obrzękiem, powiększeniem mięśni gałkoruchowych oraz wzrostem ciśnienia w oczodole, co tłumaczy się pobudzeniem fibroblastów śródmięsnej i omięsnej, prowadzącym do nadmiernej biosyntezy i gromadzenia glikozoaminoglikanów [34,46,57,59,61].

BUDOWA I FUNKCJE GLIKOZOAMINOGLIKANÓW

Glikozoaminoglikany (GAGs) – to nierozgałęzione heteropolisacharydy, zbudowane z ułożonych naprzemiennie disacharydowych sekwencji [34,46,49,60]. Pojedynczy łańcuch glikozoaminoglikanowy może zawierać od 20 do ponad 200 powtarzających się podjednostek disacharydowych, połączonych wiązaniami glikozydowymi [5,13,14,49]. Sekwencje te, których strukturę chemiczną przedstawiono w tabeli 1, składają się z reszt N-acetylowanej D-heksozami (D-glukozoaminy lub D-galaktozami) lub N-siarczanowanej D-glukozoaminy oraz reszt kwasu heksuronowego (kwasu D-glukuronowego lub jego C-5 epimeru – kwasu L-iduronowego) albo – galaktozy. W niektórych glikozoaminoglikanach wykazano ponadto obecność reszt

L-fukozy, D-mannozy, D-ksylozy i kwasu N-acetyloneuraminowego [5,13,14,64]. Łańcuchy GAGs charakteryzują się obecnością dużych ilości reszt siarczanowych (wyjątek stanowi kwas hialuronowy – niemający reszt siarczanowych), oraz reszt karboksylowych (wyjątek stanowią siarczany keratanu – niemające reszt karboksylowych), które to grupy nadają cząsteczkom zdecydowanie polianionowy charakter [5,10,14,49]. Zróżnicowana budowa disacharydowych podjednostek glikozoaminoglikanów oraz zmienność stopnia siarczanowania, są przyczyną znacznej heterogenności tych cząsteczek. Łańcuchy glikanowe, należące do jednego typu GAGs i syntetyzowane przez jeden typ komórek, mogą się różnić długością oraz liczbą i rozmieszczeniem – wzdłuż łańcucha – reszt iduronianowych i/lub siarczanowych [10,13,14]. Różnice w budowie chemicznej łańcuchów glikozoaminoglikanów stały się podstawą ich podziału na: glikozoaminoglikany chondroityno-dermatanowe (siarczany chondroityny, siarczany dermatanu), glikozoaminoglikany heparanowe (heparyny, siarczany heparanu), glikozoaminoglikany keratanowe (siarczany keratanu) oraz – kwas hialuronowy [5,10,21,49,60].

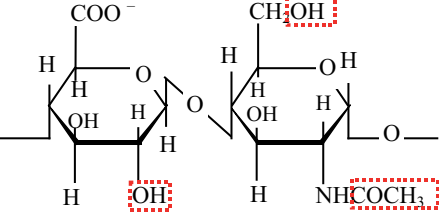
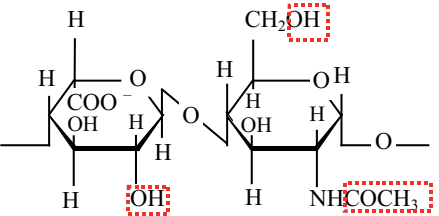
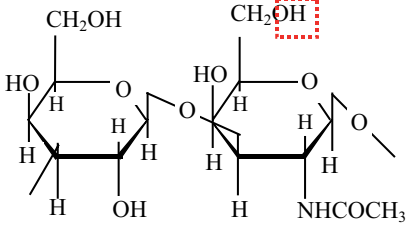
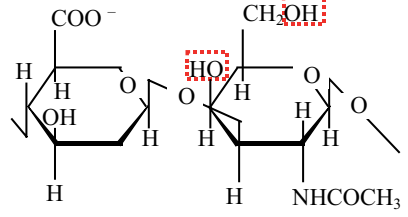
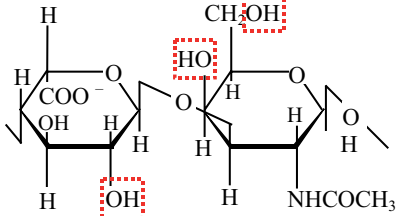
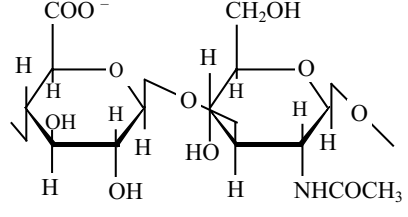
Glikozoaminoglikany, z wyjątkiem kwasu hialuronowego, wchodzi w skład glikoprotein, zwanych proteoglikanami (PGs) [5,9,12,28,30,60]. PGs występują zarówno w obrębie komórek, jako składowe błon komórkowych i ziarnistości wydzielniczych, a także stanowią komponent substancji podstawowej macierzy pozakomórkowej [10,12,28,30]. Kwas hialuronowy (HA), w odróżnieniu od innych typów glikanów, jak wspomniano wyżej, nie tworzy kowalencyjnych połączeń z białkami, może jednak oddziaływać z tymi cząsteczkami w sposób niekowalencyjny [9,20,28]. Przykładem tych ostatnich interakcji są oddziaływania HA z albuminami lub niektórymi białkami rdzeniowymi proteoglikanów, zwłaszcza z PGs chrząstki – agrekanami [14,30].

Znaczne rozpowszechnienie GAGs w tkankach, a przede wszystkim duża gęstość ujemnego ładunku elektrycznego tych makrocząsteczek sprawiają, że związki te oddziałują – prawdopodobnie często w sposób nieswoisty – z wieloma typami cząsteczek (enzymami, efektorami enzymów, czynnikami wzrostowymi i ich receptorami, czynnikami transkrypcyjnymi, białkami strukturalnymi macierzy pozakomórkowej), przez co modulują wiele procesów biochemicznych, zachodzących zarówno w obrębie komórki jak i poza nią [5,12,13,15,28,30,50]. Omawiane glikany regulują procesy różnicowania, adhezji i migracji komórek czy też mineralizacji kości [10,12,13,16,49,64]. Wpływają ponadto na spoistość, elastyczność i stopień uwodnienia macierzy pozakomórkowej, oraz regulują jej przepuszczalność dla obciążonych ładunkiem cząsteczek [9,10,14,15,50]. Stąd też, glikozoaminoglikany jako podstawowe komponenty macierzy pozakomórkowej, uczestniczą w utrzymywaniu integralności ustroju, a zmiany ich metabolizmu mogą leżeć u podstaw patogenezy licznych chorób, w tym schorzeń reumatycznych, schorzeń wątroby, cukrzycy czy też choroby Gravesa-Basedowa [4,12,37,50].

GLIKOZOAMINOGLIKANY W CHOROBIE GRAVESA-BASEDOWA

Gromadzenie się glikozoaminoglikanów w macierzy pozakomórkowej tkanek przyocznych i tkanek okolic przedgoleniowych, stanowi jedno z ogniw łańcucha patogenetycznych

Tabela 1. Węglowodany budujące łańcuchy GAGs i ich sekwencje – czerwoną, przerywaną linią zaznaczono prawdopodobne miejsca siarczanowania disacharydowych podjednostek (wg [49] zmodyfikowano)

GAGs	KWAS HEKSURONO- WY	GALA- KTOZA	HEKSOZO- AMINA	DISACHARYDOWE PODJEDNOSTKI
SIARCZAN HEPARANU/ HEPARYNA	kwas D-glukuronowy (GlcA) kwas L-iduronowy (IdoA)	-	N-acetylo- D-glukozaamina (GlcNAc)	 GlcA $\beta(1\rightarrow4)$ GlcNAc $\alpha(1\rightarrow4)$  IdoA $\alpha(1\rightarrow4)$ GlcNAc $\alpha(1\rightarrow4)$
SIARCZAN KERATANU	-	galaktoza (Gal)	N-acetylo- D-glukozaamina (GlcNAc)	 Gal $\beta(1\rightarrow4)$ GlcNAc $\beta(1\rightarrow3)$
SIARCZAN CHONDRO- ITYNY		-	N-acetylo- D-galaktozaamina (GalNAc)	 GlcNAc $\beta(1\rightarrow3)$ GalNAc $\beta(1\rightarrow4)$
SIARCZAN DERMATANU	kwas D-glukuronowy (GlcA) kwas L-iduronowy (IdoA)	-	N-acetylo- D-galaktozaamina (GalNAc)	 IdoA $\beta(1\rightarrow3)$ GalNAc $\beta(1\rightarrow4)$
KWAS HIALURONO- WY	kwas D-glukuronowy (GlcA)	-	N-acetylo- D-glukozaamina (GlcNAc)	 GlcA $\beta(1\rightarrow3)$ GlcNAc $\beta(1\rightarrow4)$

zmian, prowadzących do wystąpienia pozatarzycowych objawów choroby Gravesa-Basedowa, tj. oftalmopatii i obrzęku przedgoleniowego [46]. Zawartość glikozoaminoglikanów wzrasta w zmienionych chorobowo tkankach pozatarzycowych, proporcjonalnie do stopnia ciężkości oraz czasu trwania nadczynności gruczołu tarczowego [11,43].

W obrębie tkanek pozagałkowych i przedgoleniowych dochodzi do ilościowych zmian GAGs, a także do jakościowej przebudowy tych makrocząsteczek [17,21,34,59]. Stwierdzono, iż w pozagałkowej tkance łącznej, pozyskanej od nieleczonych osób z chorobą Gravesa-Basedowa, powikłaną wystąpieniem oftalmopatii, dochodzi do istotnego wzrostu zarówno całkowitej ilości GAGs [17,21], jak i zawartości siarczanów chondroityny (CS), kwasu hialuronowego (HA), oraz wzrostu, choć mniejszego, zawartości siarczanów dermatanu (DS) [17,21,43]. W omawianej tkance pozatarzycowej dominującą frakcją GAGs są siarczany chondroityny, podczas gdy w tkance zdrowej dominują siarczany dermatanu [17]. Pierwsze z wymienionych GAGs – siarczany chondroityny, cechuje ponadto znaczny stopień heterogenności, czego przejawem jest zwiększona w nich zawartość disacharydów siarczanowanych przy 6 atomie węgla reszty N-acetylogalaktozaminy, disacharydów siarczanowanych przy 4 atomie węgla wymienionej reszty cukrowej, oraz tych siarczanowanych przy 2 atomie węgla reszty kwasu glukuronowego [17]. Natomiast zmieniła chorobowo tkanka łączna okolic przedgoleniowych zawiera znaczne ilości kwasu hialuronowego [53,59].

Podobne do wyżej opisanych tendencje ilościowych i jakościowych zmian GAGs, stwierdzono we krwi osób chorych [17,22]. Należy zaznaczyć, iż przemiany tkankowych glikozoaminoglikanów znajdują odzwierciedlenie w odczynie profilu tych związków. We krwi nieleczonych pacjentów z chorobą Gravesa-Basedowa, z towarzyszącymi pozatarzycowymi objawami schorzenia, stwierdza się wzrost całkowitego stężenia omawianych makrocząsteczek, spowodowany znamienym wzrostem stężenia CS o wysokim stopniu siarczanowania, wzrostem stężenia DS oraz HA [17,22,34,42]. Znaczej kumulacji omawianych heteropolisacharydów we krwi towarzyszy nasilone ich wydalenie z moczem [16,17,21,23,34,43,45,47].

Dowodzono, iż zastosowana w leczeniu powikłań choroby Gravesa-Basedowa terapia steroidowa i/lub radioterapia, prowadzi do normalizacji zarówno obrazu klinicznego choroby, a także i stężenia GAGs we krwi oraz moczu osób chorych [22,23,45]. Sugeruje się, że steroidy regulują metabolizm glikozoaminoglikanów przez hamowanie biosyntezy tych makrocząsteczek, radioterapia zaś przez redukcję liczby aktywowanych, w przebiegu omawianego schorzenia, limfocytów i fibroblastów [45,56].

Jak wynika z naszych badań, do zmian metabolizmu GAGs dochodzi również u tych osób z chorobą Gravesa-Basedowa, u których nie wystąpiły pozatarzycowe objawy tego schorzenia [26,68]. W surowicy krwi wymienionych osób chorych niepoddanych leczeniu, wykazaliśmy bowiem istotny wzrost stężenia GAGs siarczanowanych, a także wzrost stężenia HA [26,68]. Wykazaliśmy ponadto, że stężenie siarczanowanych GAGs we krwi osób z przywróconą w wyniku leczenia eutyreozą ulega znacznemu obniżeniu, nie osiągając jednak wartości występu-

jących u osób zdrowych, podczas gdy stężenie HA ulega normalizacji [26,68].

UDZIAŁ CYTOKIN W PRZEMIANACH GAGs W PRZEBIEGU CHOROBY GRAVESA-BASEDOWA

Jak powszechnie wiadomo, metabolizm GAGs jest regulowany przez cytokiny [34,40,59,63]. Biosynteza tych ostatnich ulega znacznemu nasileniu w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa [52,57]. Liczne badania dowodzą, że IL-1 α , β , IFN- γ , TNF- α , TGF- α , β , IGF-1 czy PDGF regulują, w warunkach *in vitro*, procesy biosyntezy GAGs, przez pozagałkowe i/lub skórne fibroblasty, pochodzące od osób z chorobą Gravesa-Basedowa [4,17,19,40,53,56,57,61,67]. Wrażliwość fibroblastów na stymulację cytokinami zależy od anatomicznych miejsc pochodzenia tych aktywnych metabolicznie komórek [4,53,56,58]. I tak, podczas gdy fibroblasty pozagałkowej tkanki łącznej odpowiadają wzmożoną sekrecją GAGs, zarówno, na wprowadzaną do medium hodowlanego IL-1 α lub IFN- γ to fibroblasty skórne, pochodzące z okolic goleni, wykazują ograniczoną odpowiedź na stymulację tą drugą cząsteczką [56].

Wpływ cytokin na metabolizm heteropolisacharydowych składników macierzy przejawia się również rodzajem syntetyzowanych GAGs. Wykazano bowiem, że IL-1 β , IFN- γ , TNF- α oraz PDGF stymulują, w warunkach *in vitro*, procesy biosyntezy szczególnie kwasu hialuronowego [19,20,57,59,69]. IL-4 natomiast hamuje biosyntezę tego GAG oraz siarczanów chondroityny, nasila zaś procesy biosyntezy siarczanów dermatanu w hodowlach fibroblastów skóry ludzkiej [31,67]. Ponadto uważa się, że IL-4 odgrywa znaczącą rolę w późnych stadiach włóknienia mięśni okołogałkowych u osób z ocznymi powikłaniami choroby Gravesa-Basedowa [40].

Dowodzono również, że procesy biosyntezy proteoglikanów, w tym wersikanu (proteoglikanu chondroitynosiarczanowego) oraz dekoryny (proteoglikanu dermatanosiarzanowego) są pobudzane w hodowlach ludzkich pozagałkowych fibroblastów przez PDGF oraz IGF-1 [19]. PDGF silniej stymuluje syntezę chondroitynosiarczanowych PGs, a IGF-1 syntezę dermatanosiarzanowych PGs [19].

Wykazano także, że cytokiny, głównie IL-1 α , TNF- α i IFN- γ obecne w obrębie oczodołowej tkanki łącznej osób z chorobą Gravesa-Basedowa, powikłaną wystąpieniem oftalmopatii, indukują w pozagałkowych fibroblastach i komórkach śródbłonkowych ekspresję cząsteczek o właściwościach immunomodulujących, w tym adhezyjnych, szczególnie ICAM-1 [4,46,48,57]. Te ostatnie cząsteczki odgrywają ważną rolę w rekrutacji i ukierunkowaniu aktywowanych limfocytów do tkanki łącznej przestrzeni pozagałkowej, oraz w prezentacji antygenowych epitopów limfocytom T [4]. Stąd też, komórki pozagałkowej tkanki łącznej mogą być pierwotnym źródłem antygenów wywołujących odpowiedź autoimmunologiczną w chorobie Gravesa-Basedowa [4,46].

UDZIAŁ AUTOIMMUNIZACJI TOWARZYSZĄCEJ CHOROBI GRAVESA-BASEDOWA W PRZEMIANACH GAGs

Uważa się, iż przeciwciała skierowane przeciwko 23 kDa determinantom antygenowym, obecnym na fibroblastach pozagałkowych, obecne w surowicy krwi osób z chorobą

Gravesa-Basedowa, z towarzyszącymi pozataarczycowymi objawami schorzenia, stymulują wspomniane komórki do biosyntezy glikozoaminoglikanów [4]. W badaniach doświadczalnych wykazano, że hodowle pozagłokowych wieprzowych fibroblastów odpowiadały wzmożoną biosyntezą niesiarczanowanych GAGs na wprowadzone do medium hodowlanego surowice pacjentów z oftalmopatią [24,63]. W licznych badaniach *in vitro* potwierdzono stymulujący wpływ na biosyntezę GAGs immunoglobulin klasy G, obecnych w surowicy krwi osób z chorobą Gravesa-Basedowa, powikłaną zmianami ocznymi i/lub skórnymi [35,57,59,62].

Wydaje się, że zaburzenia immunologiczne, towarzyszące chorobie Gravesa-Basedowa, modyfikując przemiany GAGs, mogą prowadzić do rozwoju pozataarczycowych objawów choroby, tj. oftalmopatii i/lub obrzęku przedgołeniowego [35,57].

WPLYW HIPERTYREOZY TOWARZYSZĄCEJ CHOROBI GRAYESA-BASEDOWA NA PRZEMIANY GAGs

Hipertyreozę, występującą w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa, upośledzać może przemiany glikozoaminoglikanów [59]. Nadmierna biosynteza GAGs w tkankach pozagłokowych oraz przedgołeniowych, nieleczonych osób z chorobą Gravesa-Basedowa, nie wydaje się jednak bezpośrednio spowodowana hipertyreozą. Sugestia ta opiera się na wynikach badań doświadczalnych, które wykazały, iż wzrastające w hodowli fibroblasty ludzkiej skóry, nie odpowiadały wzmożoną biosyntezą PGs, na wprowadzone do medium hodowlanego hormony tarczycy w stężeniach odpowiadających hipertyreozie [54]. Wykazano nawet, że stosowanie dużych stężeń T_3 powoduje znaczną redukcję ilości macierzy pozagłokowej syntetyzowanej *in vitro* przez osteoblasty [32]. Możliwe jednak, że hipertyreozę odgrywa znaczącą rolę w kumulacji GAGs we krwi osób z chorobą Gravesa-Basedowa, zarówno tych z pozataarczycowymi objawami schorzenia, jak i osób bez klinicznie jawnych zmian ocznych i/lub skórnymi. Nie można bowiem wykluczyć, iż wzrost stężenia GAGs we krwi osób nieleczonych jest przejawem nasilonej, stymulowanej hormonami tarczycy, degradacji PGs/GAGs tkankowych. Proces ten odbywa się zarówno wewnątrzkomórkowo – w przedziale lizosomalnym, jak i w przestrzeni pozagłokowej [29,38]. Jednakże tylko produkty pozagłokowej degradacji PGs/

GAGs, a zachodzącej z udziałem endoglikozydaz, metaloproteinaz, enzymów z grupy ADAM-TS (a disintegrin and metalloproteinase domain, with thrombospondin type-1 modules), oraz reaktywnych form tlenu (RFT), przystając się do układu krążenia współtworzą osoczną pulę glikozoaminoglikanów [7,29,36,38,66]. Hipotezę o nasileniu pozagłokowej degradacji PGs/GAGs, stymulowanej nadmiarem hormonów tarczycy zdają się potwierdzać wyniki badań doświadczalnych [33,44]. Wykazano bowiem, że T_3 pobudza ekspresję agrekanazy-2 (enzymu z grupy ADAM-TS) w hodowlach króliczych chondrocytów [33], a ponadto że nadmiar T_3 stymuluje ekspresję żelatynazy B (metaloproteinazy) w hodowlach mysich osteoblastów [44]. Hipertyreozę pobudzać może także nieenzymatyczna, stymulowana RFT, drogą pozagłokowego rozpadu tkankowych PGs/GAGs. Stwierdzono, że spośród łącznotkankowych komponentów, kwas hialuronowy podlega w największym stopniu wolnorodnikowej degradacji w tkankach, wykazując także większą wrażliwość na działanie RFT aniżeli siarczanowane GAGs [36,37]. Wydaje się możliwe, że nasilenie degradacji PGs/GAGs przez RFT, jest jedną z głównych przyczyn, zależnego od hipertyreozy wzrostu stężenia GAGs we krwi osób z nieleczoną chorobą Gravesa-Basedowa. Jak wykazały bowiem także i nasze badania, u osób tych stwierdza się występowanie stresu oksydacyjnego, będącego wyrazem zaburzenia równowagi prooksydacyjno/antyoksydacyjnej ustroju, na niekorzyść procesów przeciwutleniających [27].

Wykazaliśmy także, iż nasileniu aktywności wolnorodnikowej w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa towarzyszy podwyższenie aktywności lizosomalnych egzoglikozydaz w surowicy krwi [26]. Nie wykluczone, iż stymulowana RFT, oksydacyjna modyfikacja błon lizosomalnych sprzyja „przeciekaniu” wspomnianych hydrolaz do krążenia, upośledzając wewnątrzkomórkową degradację GAGs.

PODSUMOWANIE

Zaburzenia metabolizmu tkankowych GAGs, towarzyszące chorobie Gravesa-Basedowa, zależne zarówno od stanu układu immunologicznego, jak i stanu czynnościowego tarczycy, a znajdujące swój wyraz w zmianach jakościowych i ilościowych glikozoaminoglikanów surowicy krwi, mogą się przyczyniać do ogólnoustrojowych zmian właściwości macierzy pozagłokowej tkanki łącznej.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Akamizu T.: Antithyrotropin receptor antibody: an update. *Thyroid*, 2001; 11: 1123–1134
- [2] Allahabadia A., Daykin J., Holder R.L., Sheppard M.C., Gough S.C., Franklyn J.A.: Age and gender predict the outcome of treatment for Graves' hyperthyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; 85: 1038–1042
- [3] Ando T., Davies T.F.: Monoclonal antibodies to the thyrotropin receptor. *Clin. Dev. Immunol.*, 2005; 12: 137–143
- [4] Bahn R.S., Heufelder A.H.: Orbital connective tissue in endocrine ophthalmopathy. *Dev. Ophthalmol.*, 1993; 25: 46–57
- [5] Bandtlow C.E., Zimmermann D.R.: Proteoglycans in the developing brain: new conceptual insights for old proteins. *Physiol. Rev.*, 2000; 80: 1267–1290
- [6] Bjoro T., Holmen J., Kruger O., Midthjell K., Hunstad K., Schreiner T., Sandnes L., Brochmann H.: Prevalence of thyroid disease, thyroid dysfunction and thyroid peroxidase antibodies in large, unselected population. The Health Study of Nord-Trøndelag (HUNT). *Eur. J. Endocrinol.*, 2000; 143: 639–647
- [7] Borkakoti N.: Structural studies of matrix metalloproteinases. *J. Mol. Med.*, 2000; 78: 261–268
- [8] Daumerie C., Ludgate M., Costagliola S., Many M.C.: Evidence for thyrotropin receptor immunoreactivity in pretibial connective tissue from patients with thyroid-associated dermopathy. *Eur. J. Endocrinol.*, 2002; 146: 35–38
- [9] Day A.J., Sheehan J.K.: Hyaluronan: polysaccharide chaos to protein organisation. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2001; 11: 617–622
- [10] DeAngelis P.L.: Evolution of glycosaminoglycans and their glycosyltransferases: implications for the extracellular matrices of animals and the capsules of pathogenic bacteria. *Anat. Rec.*, 2002; 268: 317–326
- [11] Fatourehchi V.: Pretibial myxedema: pathophysiology and treatment options. *Am. J. Clin. Dermatol.*, 2005; 6: 295–309
- [12] Filmus J.: Glycans in growth control and cancer. *Glycobiology*, 2001; 11: 19R–23R

- [13] Funderburgh J.L.: Keratan sulfate: structure, biosynthesis, and function. *Glycobiology*, 2000; 10: 951–958
- [14] Głowacki A., Koźma E.M., Olczyk K., Kucharz E.J.: Glikoaminoglikany – struktura i funkcja. *Post. Biochem.*, 1995; 41: 139–148
- [15] Handel T.M., Johnson Z., Crown S.E., Lau E.K., Proudfoot A.E.: Regulation of protein function by glycosaminoglycans – as exemplified by chemokines. *Annu. Rev. Biochem.*, 2005; 74: 385–410
- [16] Hansen C., Fraiture B., Rouhi R., Otto E., Förster G., Kahaly G.: HPLC glycosaminoglycan analysis in patients with Graves' disease. *Clin. Sci.*, 1997; 92: 511–517
- [17] Hansen C., Rouhi R., Förster G., Kahaly G.J.: Increased sulfatation of glycosaminoglycans in Graves' ophthalmopathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999; 84: 1409–1413
- [18] Holm I.A., Manson J.E., Michels K.B., Alexander E.K., Willett W.C., Utiger R.D.: Smoking and other lifestyle factors and the risk of Graves' hyperthyroidism. *Arch. Intern. Med.*, 2005; 165: 1606–1611
- [19] Imai Y., Odajima R., Inoue Y., Shishiba Y.: Effect of growth factors on hyaluronan and proteoglycan synthesis by retroocular tissue fibroblasts of Graves' ophthalmopathy in culture. *Acta Endocrinol.*, 1992; 126: 541–552
- [20] Kaback L.A., Smith T.J.: Expression of hyaluronan synthase messenger ribonucleic acid and their induction by interleukin-1 β in human orbital fibroblasts: potential insight into the molecular pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1999; 84: 4079–4084
- [21] Kahaly G., Förster G., Hansen C.: Glycosaminoglycans in thyroid eye disease. *Thyroid*, 1998; 8: 429–432
- [22] Kahaly G., Hansen C., Beyer J., Winand R.: Plasma glycosaminoglycans in endocrine ophthalmopathy. *J. Endocrinol. Invest.*, 1994; 17: 45–50
- [23] Kahaly G., Schuler M., Sewell A.C., Bernard G., Beyer J., Krause U.: Urinary glycosaminoglycans in Graves' ophthalmopathy. *Clin. Endocrinol.*, 1990; 33: 35–44
- [24] Kahaly G., Stover C., Beyer J., Otto E.: *In vitro* synthesis of glycosaminoglycans in endocrine ophthalmopathy. *Acta Endocrinol.*, 1992; 127: 397–402
- [25] Kalmann R., Mourits M.P.: Diabetes mellitus: a risk in factor in patients with Graves' orbitopathy. *Br. J. Ophthalmol.*, 1999; 83: 463–465
- [26] Komosińska-Vashev K., Olczyk K., Koźma E.M., Winsz-Szczotka K., Olczyk P., Wisowski G.: Graves' disease-associated changes in the serum lysosomal glycosidases activity and the glycosaminoglycan content. *Clin. Chim. Acta*, 2003; 331: 97–102
- [27] Komosińska-Vashev K., Olczyk K., Kucharz E.J., Marcisz C., Winsz-Szczotka K., Kotulska A.: Free radical activity and antioxidant defense mechanisms in patients with hyperthyroidism due to Graves' disease during therapy. *Clin. Chim. Acta*, 2000; 300: 107–117
- [28] Koźma E.M., Głowacki A., Olczyk K., Jaźwiec M.: Proteoglikany – struktura i funkcja. *Postępy Biochem.*, 1997; 43: 158–172
- [29] Kresse H., Glössl J.: Glycosaminoglycan degradation. *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.*, 1987; 60: 217–311
- [30] Kresse H., Schönherr E.: Proteoglycans of extracellular matrix and growth control. *J. Cell. Physiol.*, 2001; 189: 266–274
- [31] Kuroda K., Shinkai H.: Downregulation of decorin expression in dermal fibroblasts by interleukin-4. *Arch. Dermatol. Res.*, 1997; 289: 476–480
- [32] Luegmayr E., Varga F., Frank T., Roschger P., Klaushofer K.: Effects of triiodothyronine on morphology, growth behavior, and the actin cytoskeleton in mouse osteoblastic cells (MC3T3-E1). *Bone*, 1996; 18: 591–599
- [33] Makihiro S., Yan W., Murakami H., Furukawa M., Kawai T., Nikawa H., Yoshida E., Hamada T., Okada Y., Kato Y.: Thyroid hormone enhances aggrecanase-2/ADAM-TS5 expression and proteoglycan degradation in growth plate cartilage. *Endocrinology* 2003; 144: 2480–2488
- [34] Martins J.R., Furlanetto R.P., Oliveira L.M., Mendes A., Passerotti C.C., Chiamolera M.I., Rocha A.J., Manso P.G., Nader H.B., Dietrich C.P., Maciel R.M.: Comparison of practical methods for urinary glycosaminoglycans and serum hyaluronan with clinical activity scores in patients with Graves' ophthalmopathy. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*, 2004; 60: 726–733
- [35] Metcalfe R.A., Davies R., Weetman A.P.: Analysis of fibroblast-stimulating activity in IgG from patients with Graves dermopathy. *Thyroid*, 1993; 3: 207–212
- [36] Moseley R., Waddington R.J., Embery G.: Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1997; 1362: 221–231
- [37] Moseley R., Waddington R.J., Embery G.: Hyaluronan and its potential role in periodontal healing. *Dent. Update*, 2002; 29: 144–148
- [38] Moseley R., Waddington R., Evans P., Halliwell B., Embery G.: The chemical modification of glycosaminoglycan structure by oxygen-derived species *in vitro*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1995; 1244: 245–252
- [39] Nagayama Y.: Animal models of Graves' hyperthyroidism. *Endocr. J.*, 2005; 52: 385–394
- [40] Natt N., Bahn R.S.: Cytokines in the evolution of Graves' ophthalmopathy. *Autoimmunity*, 1997; 26: 129–136
- [41] Nauman J., Nauman A.: Choroba Gravesa-Basedowa; etiopatogeneza, klinika, leczenie. *Endokrynol. Pol.*, 1995; 46: 3–8
- [42] Ohtsuka Y., Yamamoto K., Goto Y., Mizuta T., Ozaki I., Setoguchi Y., Kohda H., Saki T.: Localized myxedema, associated with increased serum hyaluronic acid, and response steroid pulse therapy. *Intern. Med.*, 1995; 34: 424–429
- [43] Pappa A., Jackson P., Stone J., Munro P., Fells P., Pennock C., Lightman S.: An ultrastructural and systemic analysis of glycosaminoglycans in thyroid-associated ophthalmopathy. *Eye*, 1998; 12: 237–244
- [44] Pereira R.C., Jorgetti V., Canalis E.: Triiodothyronine induces collagenase-3 and gelatinase B expression in murine osteoblasts. *Am. J. Physiol.*, 1999; 277: E496–E504
- [45] Pilarska K., Kulig K., Krzystolik Z.: Ocena wydalania z moczem glikoaminoglikanów (GAG) w trakcie leczenia postępującej oftalmopatii obrzękowo-naciekowej w przebiegu choroby Gravesa-Basedowa. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2001; 105: 139–144
- [46] Prabhakar B.S., Bahn R.S., Smith T.J.: Current perspective on the pathogenesis of Graves' disease and ophthalmopathy. *Endocr. Rev.*, 2003; 24: 802–835
- [47] Priestley G.C., Aldridge R.D., Hurel S.: Urinary glycosaminoglycans excretion in Graves' disease. *Acta Derm. Venereol.*, 1996; 76: 368–370
- [48] Pritchard J., Horst N., Cruikshank W., Smith T.J.: Igs from patients with Graves' disease induce the expression of T cell chemoattractants in their fibroblasts. *J. Immunol.*, 2002; 168: 942–950
- [49] Prydz K., Dalen K.T.: Synthesis and sorting of proteoglycans. *J. Cell Sci.*, 2000; 113: 193–205
- [50] Raman R., Sasisekharan V., Sasisekharan R.: Structural insights into biological roles of protein-glycosaminoglycan interactions. *Chem. Biol.*, 2005; 12: 267–277
- [51] Reid J.R., Wheeler S.F.: Hyperthyroidism: diagnosis and treatment. *Am. Fam. Physician.*, 2005; 72: 623–630
- [52] Salvi M., Pedrazzoni M., Girasole N., Giuliani N., Minelli R., Wall J.R., Roti E.: Serum concentrations of proinflammatory cytokines in Graves' disease: effect of treatment, thyroid function, ophthalmopathy and cigarette smoking. *Eur. J. Endocrinol.*, 2000; 143: 197–202
- [53] Shinohara M., Hamasaki Y., Katayama I.: Refractory pretibial myxedema with response to intralesional insulin-like growth factor-I antagonist (octreotide): downregulation of hyaluronic acid production by the lesional fibroblasts. *Brit. J. Dermatol.*, 2000; 143: 1083–1086
- [54] Shishiba Y., Takeuchi Y., Yokoi N., Ozawa Y., Shimizu T.: Thyroid hormone excess stimulates the synthesis of proteoglycan in human skin fibroblasts in culture. *Acta Endocrinol. (Copenh.)*, 1990; 123: 541–549
- [55] Smith B.R.: Thyroid autoantibodies. *Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl.*, 2001; 235: 45–52
- [56] Smith T.J., Bahn R.S., Gorman C.A., Cheavens M.: Stimulation of glycosaminoglycan accumulation by interferon gamma in cultured human retroocular fibroblasts. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1991; 72: 1169–1171
- [57] Smith T.J.: Insights into the role of fibroblasts in human autoimmune diseases. *Clin. Exp. Immunol.*, 2005; 141: 388–397
- [58] Smith T.J.: Orbital fibroblasts exhibit a novel pattern of responses to proinflammatory cytokines: potential basis for the pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid*, 2002; 12: 197–203
- [59] Smith T.J.: Fibroblast biology in thyroid diseases. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes*, 2002; 9: 393–400
- [60] Sugahara K., Kitagawa H.: Recent advances in the study of the biosynthesis and functions of sulfated glycosaminoglycans. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2000; 10: 518–527

- [61] Tan G.H., Dutton C.M., Bahn R.S.: Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist and soluble IL-1 receptor inhibit IL-1-induced glycosaminoglycan production in cultured human orbital fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1996; 81: 449–452
- [62] Tao T.W., Leu S.L., Kriss J.P.: Biological activity of autoantibodies associated with Graves' dermopathy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1989; 69: 90–99
- [63] Tiedemann K., Malmström A., Westergren-Thorsson G.: Cytokine regulation of proteoglycan production in fibroblasts: separate and synergistic effects. *Matrix Biol.*, 1997; 15: 469–478
- [64] Turnbull J., Powell A., Guimond S.: Heparan sulfate: decoding a dynamic multifunctional cell regulator. *Trends Cell Biol.*, 2001; 11: 75–82
- [65] Volpé R.: Autoimmune endocrinopathies: aspects of pathogenesis and the role of immune assays in investigation and management. *Clin. Chem.*, 1994; 40: 2132–2145
- [66] Vu T.H., Werb Z.: Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes Dev.*, 2000; 14: 2123–2133
- [67] Wang L., Teng W., Shan Z.: Effect of INF-gamma, IL-4 on proliferation and synthesis of hyaluronic acid and collagen in cultured human retroorbital fibroblasts *in vitro*. *Chin. Med. J. (Engl.)*, 2000; 113: 907–910
- [68] Winsz-Szczotka K., Olczyk K., Koźma E., Komosińska-Vassev K., Wisowski G., Marcisz C.: Glikozoaminoglikany surowicy krwi osób z chorobą Gravesa-Basedowa. Praca przyjęta do druku. *Wiad. Lek.* 2006; 1–2
- [69] Wong Y.K., Tang K.T., Wu J.C., Hwang J.J., Wang H.S.: Stimulation of hyaluronan synthesis by interleukin-1 β involves activation of protein kinase C β II in fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy. *J. Cell. Biochem.*, 2001; 82: 58–67