

Mateja Erdani Kreft<sup>1</sup>, Tanja Višnjar<sup>2</sup>

# Golgijev aparat: zgradba, funkcija in bolezni

## *Golgi Apparatus: Organization, Function and Diseases*

---

### IZVLEČEK

**KLJUČNE BESEDE:** Golgijev aparat, znotrajcelični transport, diferenciacija, prirojene motnje glikozilacije, apoptoza, tarča v terapiji raka

Golgijev aparat je celični organel, ki ga najdemo v večini evkariontskih celic. Njegovi glavni funkciji sta glikozilacija proteinov in lipidov ter sortiranje in usmerjanje vezikularnega transporta v celici. Število znanih bolezni, povezanih z Golgijevim aparatom, se je v zadnjem desetletju močno povečalo zaradi razvoja genetskih preiskav bolnikov in odkritij, ki so dokazala, da sladkorji niso le okrasne sestavine proteinov in lipidov, ampak sodelujejo v ključnih celičnih procesih. Nepravilno delovanje Golgijevega aparata je vzrok za številne prirojene in pridobljene motnje glikozilacije kot tudi številne nevrodegenerativne bolezni. Prav tako v zadnjem času odkrivamo pomembnost preoblikovanja Golgijevega aparata med celično delitvijo, celično diferenciacijo in smrtjo celice. Za učinkovitejše odkrivanje in zdravljenje bolezni, povezanih z Golgijevim aparatom, je pomembno razumevanje njegovega delovanja. Zaradi pomembne vloge v številnih celičnih procesih je Golgijev aparat primeren tudi kot tarča zdravilnih učinkovin. V tem preglednem članku smo zbrali do sedaj znana dejstva o zgradbi in funkcijah Golgijevega aparata ter razpravljamo o njegovi vlogi v boleznih.

---

### ABSTRACT

**KEY WORDS:** Golgi apparatus, intracellular transport, differentiation, congenital disorders of glycosylation, apoptosis, anti-cancer therapy

The Golgi apparatus is a cellular organelle found in most eukaryotic cells. In addition to its participation in protein and lipid glycosylation, the Golgi apparatus also sorts and directs vesicular transport. The number of known diseases related to the Golgi apparatus has significantly increased in last decade because of the developments in genetic analysis and discoveries which showed that glycan structures are not mere decorative elements of proteins and lipids but serve crucial cellular functions. Improper function of the Golgi apparatus is the cause of various congenital and acquired disorders of glycosylation as well as numerous neurodegenerative diseases. Recently, the importance of the Golgi apparatus transformation during cell division, cell differentiation and cell death has been discovered. Understanding of the Golgi apparatus is important for more effective detection and treatment of diseases associated with the Golgi apparatus. Since the Golgi apparatus is involved in many cellular processes, it is also suitable as a target for pharmaceuticals. In this review, some facts about the Golgi apparatus' structure and functions are summarized and the influence of the Golgi apparatus in various diseases is discussed.

---

<sup>1</sup> Doc. dr. Mateja Erdani Kreft, univ. dipl. biol., Inštitut za biologijo celice, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Lipičeva ulica 2, 1000 Ljubljana; mateja.erdani@mf.uni-lj.si

<sup>2</sup> Asist. Tanja Višnjar, univ. dipl. biol., Inštitut za biologijo celice, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Lipičeva ulica 2, 1000 Ljubljana

## UVOD

Golgijev aparat (GA) je eden izmed prvih opisanih celičnih organelov. Leta 1898 ga je prvi opisal Bartolomeo Camillo Emilio Golgi (slika 1A), ki se je rodil 7. julija 1843 v Córteni (danes imenovana Córteno Golgi), alpski vasiči na severu Italije. Že pri 16 letih se je vpisal na Medicinsko fakulteto v Pavii in v šestih letih diplomiral. Med delom v bolnišnici je v Purkinjevih celicah z uporabo kalijevega dikromata ( $K_2Cr_2O_7$ ) in srebrovega nitrata ( $AgNO_3$ ) v t. i. črni reakciji (ital. *la reazione nera*) opazil mrežo v obliki košare, ki je obkrožala jedro celice. Prvi opis te strukture je Golgi objavil leta 1898 pod imenom »*apparato reticolare interno*« ali »notranji mrežast aparat«. To ime so kasneje skrajšali v »*Golgi apparatus*«, ki ga še danes uporabljamo. Po objavi odkritja GA je bilo veliko razprav o njegovem dejanskem obstoju. Dokončno sta leta 1954 Dalton in Felix s pomočjo presevnega elektronskega mikroskopa potrdila obstoj GA (1).

## LEGA IN ZGRADBA GOLGIJEVEGA APARATA

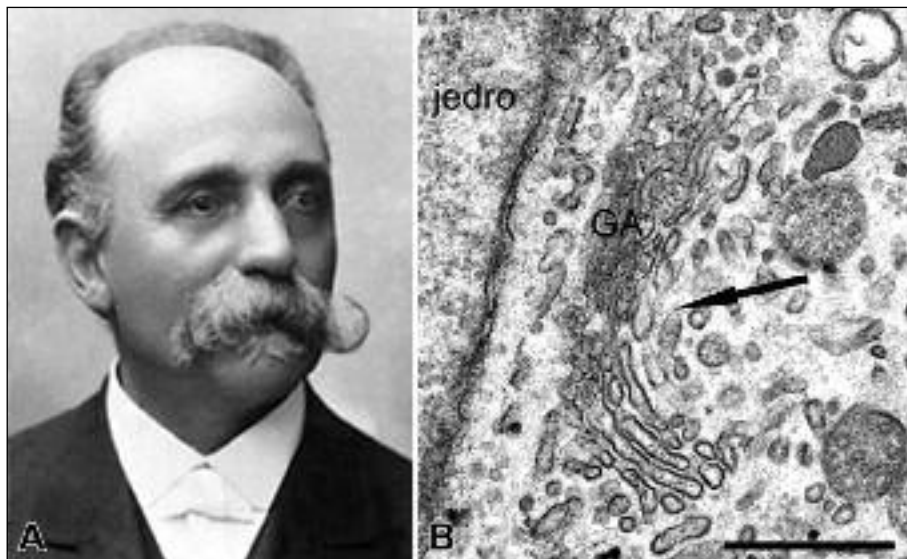
Golgijev aparat je osrednji organel v celičnem endomembranskem sistemu, katerega lega je

odvisna od citoskeletnih elementov: mikrotubulov, aktinskih filamentov in intermediarnih filamentov, ki skupaj s pomožnimi motornimi in nemotornimi proteini vplivajo tudi na nastanek, obliko in funkcijo GA. Spremembo lege GA je opaziti med mitozo, celično polarizacijo in migracijo ter celično diferenciacijo.

Golgijev aparat sestavljajo cisterne in vezikulotubularno mreže. Ločimo cis del GA, ki je obrnjen k jedru, in trans del, ki je obrnjen proti celični površini. Iz cis proti trans delu GA si sledijo v naslednjem vrstnem redu: cis golgijevo mreže, cis cisterne, mediane cisterne, trans cisterne ter trans golgijevo mreže (angl. *trans-Golgi network*, TGN) (slika 1B). V smeri od cis proti trans delu GA poteka tudi transport tovora skozi GA (2, 3). Cisterne GA vsebujejo oligosaharide in številne encime, ki so specifično razporejeni od cis proti trans delu GA (slika 2) (4).

## TRANSPORT V GOLGIJEVEM APARATU

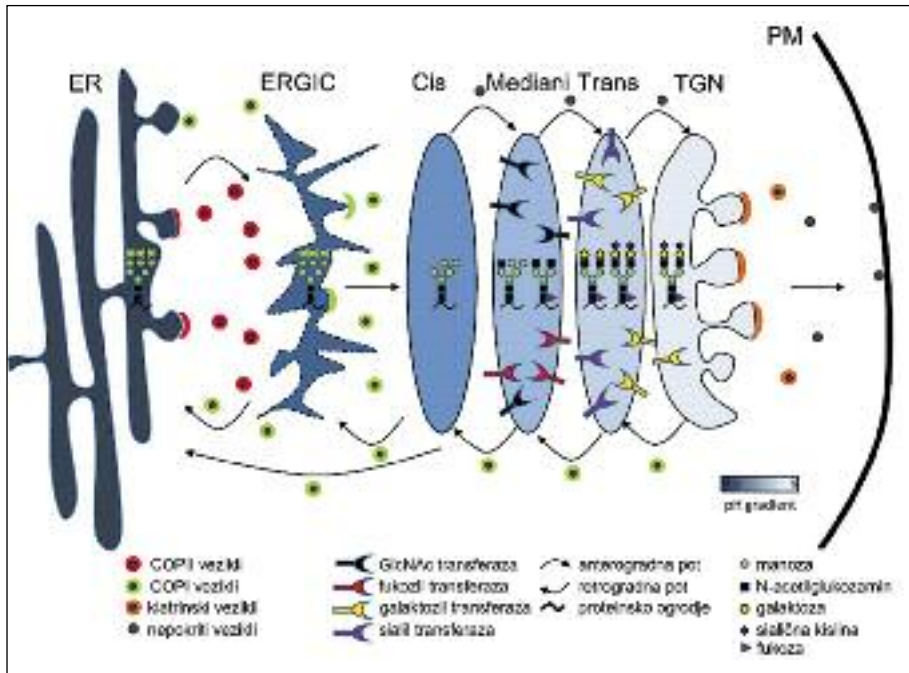
Golgijev aparat sprejme proteine in lipide, ki iz endoplazemskega retikuluma (ER) oziroma neposredno iz organela med endoplazemskim retikulomom in Golgijevim aparatom



Slika 1. Camillo Golgi in Golgijev aparat. A – odkritelj Golgijevega aparata, zdravnik in znanstvenik Bartolomeo Camillo Emilio Golgi. Leta 1906 je skupaj s Santiagom Ramónom y Cajalom prejel Nobelovo nagrado za delo na področju zgradbe živčnega sistema. B – presevna elektronska mikrofografija Golgijevega aparata. Puščica na B označuje trans golgijevo mrežo. Merilca 500 nm. GA – Golgijev aparat.

(angl. *endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment*, ERGIC) med ER in GA pri-potujejo s pomočjo transportnih veziklov in tubulov (6). Sprejeti tovor nato nadaljuje pot skozi GA v smeri od cis proti trans delu. Med

to potjo se proteini in lipidi modificirajo in v TGN razvrstijo v transportne vezikle, ki prenašajo končne produkte v endosome, avto-fagosome, lizosome, plazmalemo ali v sekre-cijske vezikle in posledično v medceličnino.



Slika 2. Shematski prikaz znotrajcelične transportne poti in poteka N-glikozilacije v Golgijevem aparatu (5). Glikozilacijski encimi so specifično razporejeni od cis proti trans delu GA. Pri nastanku veziklov in usmerjanju tovora v anterogradni smeri, od endoplazemskega retikuluma skozi predel ERGIC med ER in GA do GA in končno do plazmaleme, sodelujejo vezikli COPII, COPI in klatrinski vezikli. COPI-vezikli sodelujejo tudi pri transportu v retrogradni smeri. Barva ER, ERGIC, GA odraža gradient pH. COPI – plaščni protein I (angl. coat protein I), COPII – plaščni protein II (angl. coat protein II), ER – endoplazemski retikulum, ERGIC – organel med endoplazemskim retikulomom in Golgijevim aparatom (angl. endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment), GA – Golgijev aparat, TGN – trans golgijevo mrežje (angl. trans-Golgi network), PM – plazmalema.

Tabela 1. Vrste transportnih veziklov, njihovo mesto nastanka in zlivanja. COPI – plaščni protein I (angl. coat protein I), COPII – plaščni protein II (angl. coat protein II), ER – endoplazemski retikulum, ERGIC – organel med endoplazemskim retikulomom in Golgijevim aparatom (angl. endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment), GA – Golgijev aparat, TGN – trans golgijevo mrežje (angl. trans-Golgi network).

Vrste veziklov	COPII	COPI	KLATRINSKI
Mesto nastanka	<ul style="list-style-type: none"> <li>ER</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ERGIC</li> <li>cis in mediani GA</li> <li>TGN</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>TGN in plazmalema</li> </ul>
Mesto zlivanja	<ul style="list-style-type: none"> <li>cis GA</li> <li>ERGIC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ER</li> <li>GA (anterogradni in retrogradni transport znotraj GA)</li> <li>plazmalema</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>endosomi</li> <li>lizosomi</li> <li>sekrepcijski vezikli</li> </ul>

Transportni vezikli so lahko nepokriti ali pokriti (slika 2). Pokriti vezikli imajo na membrano vezane plaščne proteine, ki sodelujejo pri nastanku veziklov in usmerjanju tovora. Najbolj znani plaščni proteini (angl. *coat protein*, COP) so COPII, COPI in klatrin. Vezikle poimenujemo glede na to, kateri plaščni proteini jih obdajajo (slika 2, tabela 1).

Način potovanja tovora skozi GA predvidevajo naslednje tri hipoteze:

- hipoteza o potovanju tovora z zorenjem cistern,
- hipoteza o potovanju tovora z vezikularnim transportom in
- hipoteza o potovanju tovora po tubularnih povezavah med cisternami GA.

Po prvi hipotezi tovor prehaja skozi GA s postopnim zorenjem cistern od cis proti trans delu. Na novo sintetizirani proteini in lipidi, ki prihajajo z vezikli iz ER in ERGIC, se zlivajo v novo nastajajoče cisterne v cis delu GA. Te cisterne nato med procesom zorenja potujejo proti trans delu, kjer se preoblikujejo v transportne vezikle (2).

Druga hipoteza predvideva, da je GA stabilen organel, sestavljen iz cistern, v katerih so ves čas specifično prisotni določeni encimi in da tovor prehaja iz enega dela GA v drugega s pomočjo transportnih veziklov (7, 8). V prid tej hipotezi govori tudi raziskava, v kateri so dokazali transport proteinov med cisternami GA s COPI-vezikli (9). Dokazali so tudi, da se COPI-vezikli združujejo s cisternami, in sicer s pomočjo proteinov družine NSF/SNAP/SNARE (angl. *N-ethylmaleimide-sensitive factor*, NSF; angl. *soluble NSF attachment protein*, SNAP; angl. *SNAP receptor*, SNARE) (10).

Tretja hipoteza pa govori o difuzijskem potovanju tovora po tubularnih povezavah med cisternami GA (11, 12). Po tem modelu naj bi tubularne povezave omogočale zelo hiter transport tistih proteinov, ki se v GA ne glikozilirajo (npr. albumin in proinzulin) (11).

Najnovejše raziskave kažejo, da se različni modeli, ki predvidevajo potovanje tovora skozi GA medsebojno ne izključujejo. Kako bo potekal transport skozi GA, je odvisno predvsem od kemijske zgradbe tovora (tudi glikoziliranih), njegove velikosti in vloge v celici. Tako naj bi nekatere oblike tovora potovale

skozi GA z zorenjem cistern, druge z vezikularnim transportom in tretje po tubularnih povezavah med cisternami GA (13). Čeprav večina tovora potuje skozi GA v anterogradni smeri, pomemben del transporta poteka tudi v retrogradni smeri med cisternami in celo nazaj v ER (slika 2). Na ta način je zagotovljeno tudi popraviljanje morebitnih napak, saj se nepravilno zvitih proteini vračajo nazaj v ER ali na njihovo pravo mesto delovanja.

## FUNKCIJE GOLGIJEVEGA APARATA

Golgijev aparat je dinamičen organel in opravlja številne funkcije, kot so (2, 14–18):

- posttranslacijske modifikacije proteinov in lipidov (encimi GA modificirajo proteine in lipide z dodajanjem ogljikovih hidratov (glikozilacija) in fosfatov (fosforilacija); slednji pri razvrščanju in pakiranju predstavljajo signale, ki vodijo tovor v določene organele ali izven celice (slika 2)),
- sortiranje proteinov v transportne vezikle, ki prenašajo proteine v različne celične organele (npr. endosome, avtofagosome, lizosome), v plazmalemo in v zunajcelični prostor,
- vračanje nepravilno zvitihi proteinov v ER,
- povezovanje eksocitotskih in endocitotskih poti ter
- sestavljanje trigliceridov z apolipoproteini B in drugimi apolipoproteini, ki sestavljajo komplekse lipoproteinov z majhno gostoto (angl. *low-density lipoproteins*, LDL).

Golgijev aparat med drugim sodeluje tudi v celični delitvi (npr. mitoz, mejozi) in celični smrti (npr. apoptozi) prek signalnih poti, ki jih vodijo proteini naddružine Ras, proteinske kinaze in proteini G ter vpliva na organizacijo centrosoma, celično polarizacijo, obnovo celice po poškodbi, rast in diferenciacijo celic (11, 19–25).

## NEPRAVILNA GLIKOZILACIJA V GOLGIJEVEM APARATU VODI V BOLEZEN

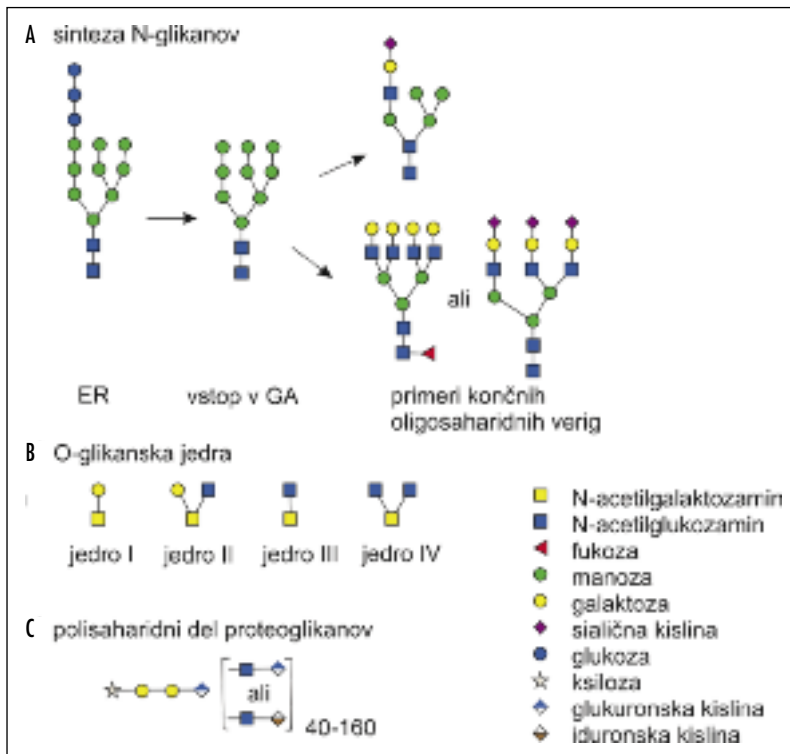
Ena izmed glavnih funkcij GA je glikozilacija proteinov in lipidov, ki potujejo skozi GA. Glikozilacija je ena najpogostejših kovalent-

nih modifikacij proteinov. Reakcije glikozilacije potekajo v GA s pomočjo specifičnih encimov glikoziltransferaz. Glikoziltransferaze so specifično nameščene v različnih delih GA, kar omogoča zaporedno pripenjanje sladkornih ostankov na proteine (slika 2). Funkcije veza-ve oligosaharidnih verig na tarčne proteine so različne: lahko stabilizirajo strukturo proteinov, vplivajo na njihovo pravilno zvijanje, pravilno razporejanje in transportiranje do tarčnih mest, sodelujejo pri prenašanju specifičnih signalov in pri specifičnih zunajceličnih interakcijah. Poznamo dve vrsti glikozilacije: N-glikozilacijo (oligosaharid se veže na protein preko amino skupine asparagina) in O-glikozilacijo (oligosaharid se veže na protein preko hidroksilne skupine serina ali treonina) (26).

N-glikozilacija se začne v zrnatem ER in omogoča pravilno zvijanje proteinov v ER ter poveča njihovo stabilnost. Nadaljuje se v GA, kjer potече najprej odstranjevanje sladkornih ostankov (manoz) in nato pripenjanje novih,

najpogosteje N-acetilglukozamina, galaktoze, fukoze in sialične kisline (N-acetilnevraminske kisline) (slika 3A).

Mehanizem O-glikozilacije je manj poznan, poteka v GA ter omogoča nastanek mucinov in proteoglikanov. Mucini so proteoglikanom podobni kompleksi kovalentno povezanih heteroglikanov in proteinov. So sestavina sluzi in tudi vezivnega tkiva. Sinteza mucinov se v GA začne z vezavo N-acetilgalaktozamina na hidroksilno skupino serina ali treonina. Temu sledi vezava galaktoze in N-acetilglukozamina v različnih kombinacijah in nastanek enega od štirih možnih O-glikanskih jedr (slika 3B). Ta jedra so osnova za nadaljnjo sintezo velikega števila različnih O-glikanov, v katerih prevladujejo galaktoza, N-acetilglukozamin in sialična kislina. Proteoglikan je vsaka makromolekula iz skupine sestavljenih polisaharidov iz ene ali več verig glikozaminoglikanov, vezanih na proteinsko osnovo. So sestavina medceličnine. Sinteza



Slika 3. Sladkorji, ki sodelujejo pri glikozilaciji proteinov. A – sinteza N-glikanov v ER in GA, B – O-glikanska jedra, C – polisaharidni del proteoglikanov, ki nastaja v GA. ER – endoplazemski retikulum, GA – Golgijev aparat.

polisaharidnega dela proteoglikanov poteka v GA, kjer se na hidrosilno skupino serina najprej veže tetrasaharid (ksiloza-galaktoza-galaktoza-glukuronska kislina), na katerega je vezan glikozaminoglikan. Slednjega gradi disaharid (N-acetilglukozamin-glukuronska kislina ali N-acetilglukozamin-iduronska kislina), ki se lahko 40–160-krat ponovi in ima pogosto vezane sulfatne skupine, zaradi katerih so proteoglikani tudi negativno nabiti (slika 3C).

Zaradi nepravilnega delovanja GA prihaja do napak v glikozilaciji proteinov in lipidov. Najpogosteje so vzroki za napake v glikozilaciji prirojeni, lahko pa so tudi pridobljeni. Prirojene motnje glikozilacije se večinoma dedujejo avtosomno recesivno. Izjema sta le dva primera, in sicer EXT1/EXT2-CDG, ki se deduje avtosomno dominantno, in MAGT1-CDG, ki se deduje spolno vezano s kromosomom X (27). Pridobljene motnje glikozilacije novejša raziskave povezujejo z boleznimi, kot so sladkor-na bolezen, rak in cistična fibroza.

### **Prirojene motnje glikozilacije**

Prirojene motnje glikozilacije (angl. *congenital disorders of glycosylation*, CDG) je prvič opisal belgijski pediater Jaak Jaeken leta 1980 (28). Od leta 2003 se je število novo odkritih CDG povečalo za približno štirikrat (z 12 na 50) (29). V tabeli 2 so prikazani primeri CDG, ki nastopijo zaradi nepravilnega delovanja GA. Primeri CDG so prikazani po stari in novi nomenklaturi (26, 27).

Starejša nomenklatura loči med CDG tipa I in CDG tipa II (30). Če prihaja do nepravilnosti v začetnih korakih N-glikozilacije v ER, ki se kažejo v odsotnosti celotne oligosaharidne verige na proteinih, govorimo o CDG tipa I. Če pa prihaja do nepravilnosti v O-glikozilaciji ali N-glikozilaciji v GA, govorimo o CDG tipa II (31). Klinični fenotipi CDG so različni in odvisni od vrste genske mutacije, zato novejša nomenklatura temelji na zapisu okvarjenega gena, ki mu sledi končnica -CDG (tabela 2).

Odgovorni geni za CDG tipa II praviloma nosijo zapis za (v oklepaju so primeri CDG po stari nomenklaturi) (31–37):

- glikoziltransferaze (CDG-IIa, -IIb, -IID),
- sladkorno-nukleotidne transporterje (CDG-IIc),

- komplekse, ki koordinirajo retrogradni transport veziklov v GA (angl. *conserved oligomeric Golgi complex*, COG complex) (CDG-IIe, CDG-II/COG1, CDG-II/COG4, CDG-II/COG8) in
- protonsko črpalko vakuolarnega tipa (V-ATP-azo (adenozin 5'-trifosfat, angl. *adenosine 5'-triphosphate*, ATP)), ki je odgovorna za zakisovanje svetline GA (*cutis laxa*).

Najpogostejši klinični fenotipi CDG so opisani v tabeli 2. Zdravljenje obstaja le za tri od okoli 50 znanih CDG. Običajno poteka z visokimi dozami manoze (MPI-CDG), fukoze (PIGM-CDG) ali v primeru PIGM-CDG z butanoati, inhibitorji histonske deacetilaze (27). Vzroki za tako majhno število zdravljenj so v počasnem odkrivanju/diagnosticiranju različnih vrst CDG, njihovo nepoznavanje in odsotnost primernih zdravilnih učinkovin.

### **Sekundarne ali pridobljene motnje glikozilacije**

Sekundarne ali pridobljene motnje glikozilacije so pogosto povezane z nenalezljivimi epideimičnimi boleznimi, kot sta rak in sladkorna bolezen. Pri mnogih malignih transformacijah so namreč prisotne tudi spremembe v glikozilaciji (38). Znano je, da se zaradi sprememb v zgradbi glikanov, npr. na integrinu  $\alpha_3\beta_1$ , zmanjša kontaktna inhibicija in poveča celična gibljivost, to pa posledično pospeši proces metastaziranja rakavih celic (39).

Tudi pojav sladkorne bolezni tipa II je lahko povezan z motnjami glikozilacije. Ohtsubo in sodelavci so odkrili povezavo med aktivnostjo N-acetilglukozamil-IVa (GlcNAc-IVa) transferaze in transporterjem glukoze 2 (angl. *glucose transporter 2*, Glut-2) v celicah beta trebušne slinavke (40). Ugotovili so, da prehrana z visoko vsebnostjo maščob značilno zmanjša izražanje transferaze GlcNAc-IVa, ki sodeluje pri sintezi glikanov na Glut-2. Izbjava transferaze GlcNAc-IVa tako vodi v spremenjeno glikansko zgradbo Glut-2, kar sproži njegovo endocitozo in razgradnjo v lizosomih. Posledično je inhibiran vstop glukoze v celico in s tem zmanjšana od glukoze odvisna sekrecija inzulina.

Na koncu naj omenimo še cistično fibrozo, ki je najpogostejša smrtna, dedna bolezen pri Kavkazijcih. Vzrok za cistično fibrozo je

Tabela 2. Primeri prirojenih motenj glikozilacije zaradi napak v oligosaharidnih verigah (glikanih), ki so nastale kot posledica nepravilnega delovanja Golgijevega aparata (CDG-IIb ni omenjen, ker nastane kot posledica nepravilnega delovanja endoplazemskega retikuluma), in najpogostejši klinični fenotipi prirojenih motenj glikozilacije. CDG – prirojene motnje glikozilacije (angl. congenital disorders of glycosylation), COG – kompleksi, ki koordinirajo retrogradni transport veziklov v Golgijev aparat (angl. conserved oligomeric Golgi complex).

CDG <sup>a</sup>	CDG <sup>b</sup>	Napake v glikanih	Najpogostejši klinični fenotipi
CDG-IIa	MGAT2-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>manj razvejani</li> <li>manjkajo terminalni sladkorji na stranskih vejah</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>hud celostni razvojni zaostanek</li> <li>dismorfičen obraz</li> <li>hipotonija</li> <li>pogoste okužbe</li> <li>epilepsija</li> </ul>
CDG-IIc	FUCT1-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>okvarjena fukozilacija</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>intelektualna manjzmožnost</li> <li>nizka postava</li> <li>ponavljajoče se okužbe</li> <li>povišan nivo levkocitov v periferni krvi</li> </ul>
CDG-IIId	β4GALT1-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>izguba sladkorinih ostankov iz sialične kisline in galaktoze</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>hude nevrološke motnje</li> <li>hidrocefalus</li> <li>miopatija</li> <li>napake v strjevanju krvi</li> <li>miopatija</li> </ul>
CDG-IIe	COG7-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>delna sializilacija</li> <li>delna galaktozilacija</li> <li>napake v demanzilaciji</li> <li>napake N-glikanov in O-glikanov</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>smrtna že nekaj tednov po rojstvu</li> <li>hud celostni razvojni zaostanek</li> <li>zgubana koža</li> <li>mikrocefalija</li> <li>hipotonija</li> <li>epilepsija</li> <li>črevesne težave</li> <li>zavrta rast</li> </ul>
CDG-IIIf	SLC34A1-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>napaka v sializilaciji</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>smrt v otroštvu</li> <li>hemoragije</li> <li>respiratorne stiske</li> <li>oportunistične okužbe</li> </ul>
CDG-II/COG1	COG1-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>delna sializilacija</li> <li>delna galaktozilacija</li> <li>napake v demanzilaciji</li> <li>napake N-glikanov in O-glikanov</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>zavrta rast</li> <li>črevesne težave</li> <li>hipotonija</li> <li>mikrocefalija</li> <li>hepatomegalija</li> <li>kardiomiopatija</li> </ul>
CDG-II/COG4	COG4-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>napake v sializilaciji</li> <li>napake N-glikanov in O-glikanov</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>epilepsija</li> <li>mikrocefalija</li> <li>ataksija</li> </ul>
CDG-II/COG8	COG8-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>delna sializilacija</li> <li>napake v galaktozilaciji</li> <li>napake N-glikanov in O-glikanov</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>zavrta rast</li> <li>črevesne težave</li> <li>specifični razvojni zaostanek (hipotonija)</li> <li>epilepsija</li> <li>mikrocefalija</li> </ul>
<i>Cutis laxa</i>	ATP6VOA2-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>delna sializilacija</li> <li>napake v galaktozilaciji</li> <li>povečana fukozilacija</li> <li>napake N-glikanov in O-glikanov</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>zaostanek v rasti</li> <li>celostni razvojni zaostanek</li> <li>zgubana koža</li> <li>oslabelost vezivnega tkiva</li> <li>nevrološke okvare</li> </ul>
<b>Sindrom Ehlers Danlos</b>	B4GALT7-CDG	<ul style="list-style-type: none"> <li>napake O-glikanov</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>specifični razvojni zaostanek (hipotonija)</li> <li>nepravilnosti v vezivnem tkivu</li> <li>povečana mobilnost sklepov in elastičnost kože</li> <li>ploska stopala</li> <li>anevrizme</li> </ul>

<sup>a</sup>stara nomenklatura za CDG

<sup>b</sup>Nova nomenklatura za CDG temelji na zapisu okvarjenega gena (z velikimi tiskanimi črkami in ne-ležeče) in ima končnico -CDG.

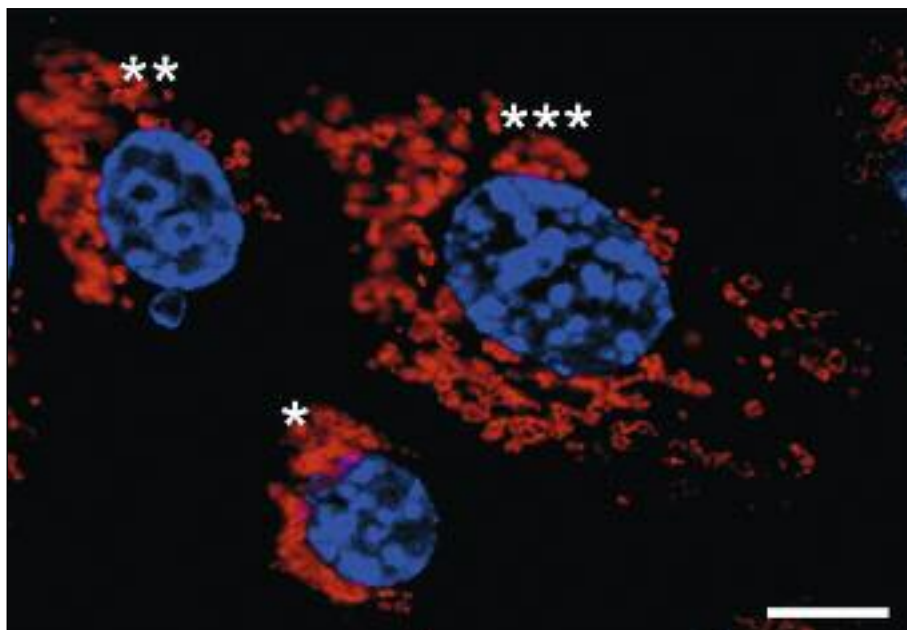
mutacija v genu CFRT (angl. *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*), ki določa protein za kloridni kanalček. Že pred 50 leti so ugotovili, da se sestava glikoproteinov pri bolnikih s cistično fibrozo razlikuje od zdravih oseb (41). Sedaj je znano, da se patogena bakterija *Pseudomonas aeruginosa* bolje veže na glikoproteine bolnikov s cistično fibrozo kot na glikoproteine zdravih oseb (42). Zato ima spremenjena glikozilacija pomemben vpliv tudi na patologijo te bolezni.

Molekularne povezave med spremembami v glikozilaciji proteinov in lipidov ter rakom, sladkorno boleznijo in cistično fibrozo so manj jasne kot pri zgoraj opisanih prirojenih motnjah. Vendar se pomen nepravilne glikozilacije v zadnjem desetletju šele odkriva in v prihodnosti pričakujemo odkritje večjega števila bolezni, ki so neposredno ali posredno posledica nepravilnosti v glikozilaciji in delovanju GA. Vsekakor bo ena izmed pomembnih nalog raziskav v prihodnosti odkriti »glikansko kodo«, tj. povezati specifično glikansko zaporedje s specifično biološko funkcijo.

## PREOBLIKOVANJE GOLGIJEVEGA APARATA MED CELIČNO DIFERENCIACIJO

Med diferenciacijo celice pridobijo specifične morfološke in funkcionalne lastnosti. Vsa epiteljska tkiva so si podobna v glavnih strukturnih lastnostih, med seboj pa se v veliki meri razlikujejo po poteku diferenciacije, ki vodi v funkcionalno specializacijo določenega epitelija (43).

V uroteliju, epiteliju v ledvični kotanji, sečevodih, sečnem mehuru in proksimalni sečnici, diferencirane celice sintetizirajo uroplakine (44). Uroplakini so transmembranski proteini, ki skupaj s tesnimi stiki zagotavljajo najtesnejšo pregrado v našem telesu, krvno-urinsko pregrado (45, 46). Njihova sinteza se začne v ER, v GA pa se dokončno oblikujejo. Temu procesu sledi tudi preoblikovanje GA. Med diferenciacijo urotelijskih celic se namreč GA preoblikuje iz osnovne oblike, zgrajene iz ene skladovnice cistern, razporejene ob celičnem jedru, v močno fragmentirano obliko, iz več skladovnic cistern, razporeje-



Slika 4. Oblike Golgijevega aparata v različno diferenciranih urotelijskih celicah in vitro. Fluorescenčna mikroskopija. Modra barva – jedra celic, rdeča barva – Golgijev aparat, \* – osnovna oblika Golgijevega aparata, \*\* – prehodna oblika Golgijevega aparata, \*\*\* – fragmentirana oblika Golgijevega aparata. Merilce 10 µm.



nih po celotni citoplazmi (slika 4) (24, 25, 47). Fragmentacija pericentrosomalnega GA je v diferenciranih urotelijskih celicah ključna za transport in enakomerno razporeditev uroplakinov po celotni apikalni plazmalemi urotelijskih celic (25).

Prav tako so znane spremembe v organiziranosti GA v urotelijskih celicah med embrionalnim razvojem. V 15. dnevu embrionalnega razvoja se GA nahaja v bazolateralnem delu površinskih urotelijskih celic in je slabo razvit. Število cistern GA se najbolj poveča v 17. dnevu embrionalnega razvoja, kar sovpada s povečano sintezo glikozaminoglikanov. S spremembo GA je torej povezana intenzivnost procesov diferenciacije, kot sta prestrukturiranje apikalne plazmaleme in sinteza površinskih glikozaminoglikanov (48). Spremembe v organizaciji GA med diferenciacijo so opazili tudi v epitelnih celicah očesne leče, mišičnih celicah in živčnih celicah (22, 49, 50). Kateri dejavniki določajo število cistern v GA in kateri vplivajo na reorganizacijo GA med diferenciacijo celic, še ni znano.

## RAZGRADNJA GOLGIJEVEGA APARATA MED PROGRAMIRANO CELIČNO SMRTJO IN PRI NEVRODEGENERATIVNIH BOLEZNIH

Med programirano celično smrtjo (apoptozo) in tudi pri nekaterih nevrodegenerativnih boleznih, kot so Alzheimerjeva bolezen, amiotrofična lateralna skleroza (ALS), Creutzfeldt-Jacobova bolezen in kortikobazalna degeneracija, se GA najprej fragmentira (podobno kot med celično delitvijo in celično diferenciacijo), nato pa dokončno razgradi. Fragmentacija GA je torej v teh primerih ireverzibilna (51).

Raziskavi Mukherjeeve in sodelavcev sta pokazali, da je fragmentacija GA v zgodnji fazi apoptoze neodvisna od citoskeletnih elementov, saj se za razliko od fragmentacije GA med celično delitvijo ali celično diferenciacijo začne že pred reorganizacijo aktinskih filamentov in mikrotubulov (52, 53). Vzrok za fragmentacijo GA so aktivne kaspaze (cisteinske proteaze), ki cepijo proteine GA (npr. golgin-160, GRASP65 (angl. *Golgi reassembly-stacking protein of 65 kDa*), p115, GM130 (angl. *Golgi*

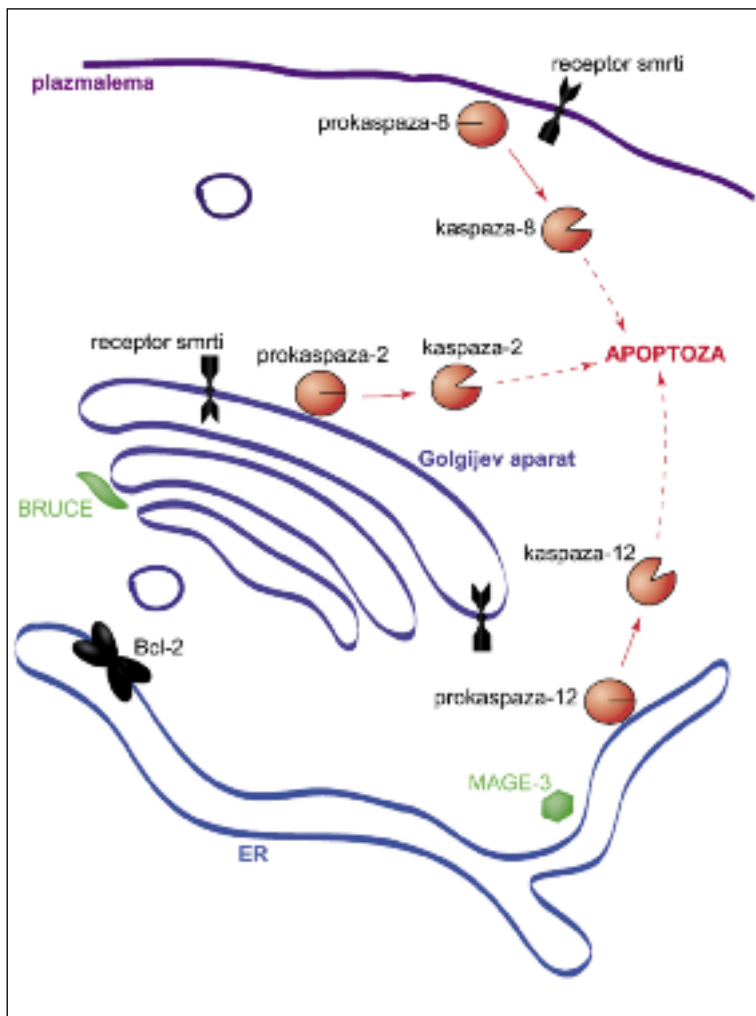
*matrix protein of 130 kDa*), giantin). Z razgradnjo golgina-160 in p115 sovpada tudi aktivacija poli ADP-ribozne polimeraze (angl. *poly adenosine diphosphate ribose polymerase*, PARP), ki je indikator in lahko tudi sprožilec apoptoze (54, 55). Iz tega lahko sklepamo, da je fragmentacija GA eden izmed prvih dogodkov v apoptozi, ki sovpada s spremembami v mitohondriju, npr. s sprostitvijo citokroma c. Šele v končni fazi apoptoze pride do morfoloških sprememb celičnega jedra in razgradnje citoskeleta (53).

Dosedanja raziskave kažejo, da je fragmentacija GA tudi zgodnja in ireverzibilna sprememba v nevrodegeneraciji. Povečano izražanje proteina GRASP65, ki povezuje cisterne GA, namreč lahko inhibira fragmentacijo GA in upočasni smrt nevronov (20, 56). Prav tako inhibicija mitohondrijske poti, ki vodi v celično smrt, zmanjša fragmentacijo GA. To odkritje kaže na povezanost in komunikacijo med celičnimi organi ter vpliv GA na celično smrt. Po mnenju Gonatasa in sodelavcev ter Nakagomija in sodelavcev GA deluje kot stikalo, ki sprejema notranje in zunanje signale in kontrolira vstop celice v apoptozo (51, 56).

## GOLGIJEV APARAT IN NOVE OBLIKE ZDRAVLJENJA

Zaradi vloge GA v številnih celičnih procesih je GA primeren tudi kot tarča bioloških zdravil. V tako imenovani fotodinamični terapiji se v GA kopiči na svetlobo občutljivo barvilo cinkov ftalocianin (angl. *zinc phthalocyanine*, ZnPc). To barvilo ob osvetlitvi tvori reaktivne kisikove zvrsti (angl. *reactive oxygen species*, ROS), ki sprožijo apoptozo (57). To potrjuje, da se celična smrt ob uporabi fotodinamične terapije prične ravno v GA. Nedavne raziskave Fadela in sodelavcev na mišjih modelih *in vitro* in *in vivo* so pokazale, da fotodinamična terapija z biološko razgradljivimi nanodelci, tumorsjenimi z ZnPc, zmanjšuje velikost tumorjev in upočasnjuje njihovo rast (58).

Kot osrednji organel biosintetsko-sekretorne poti ima GA pomembno vlogo pri sprožitvi apoptoze (slika 5) (59). Čeprav vloga GA v celični smrti še ni popolnoma raziskana, že samo odkritje njegovega sodelovanja v procesu,



Slika 5. Vloga Golgijevega aparata v celični smrti. Plazmalema, Golgijev aparat in endoplazemski retikulum zaznavajo t. i. celični stres (npr. virusno okužbo, številne nepravilno zvite proteine in spremembe v endomembranah zaradi spremenjene lipidne sestave ali specifičnih interakcij transmembranskih proteinov). Če celica celičnega stresa ne more odstraniti ali napak popraviti, gre v apoptozo. Receptorji smrti, kot sta npr. receptor Fas in TNFR-1, so na plazmalemi in membranah GA in lahko preko kaspaze-8 ali kaspaze-2 sprožijo apoptozo. Anti-apoptotski protein Bcl-2 na membranah ER regulira koncentracijo kalcija v ER. Če se zaloge kalcija v ER močno zmanjšajo, se aktivirajo kaspaze-12, ki sprožijo apoptozo. BRUCE inhibira aktivacijo kaspaze-2 in MAGE-3 inhibira aktivacijo kaspaze-12. Sprožilci apoptoze so obarvani rdeče, njihovi inhibitorji pa zeleno. Receptorji smrti in proteini družine Bcl-2 so lahko proapoptotski ali antiapoptotski, odvisno od tipa proteina in vzroka aktivacije. Bcl-2 – angl. B-cell lymphoma 2, BRUCE – angl. baculoviral IAP (inhibitor of apoptosis) repeat-containing ubiquitin-conjugating enzyme, ER – endoplazemski retikulum, GA – Golgijev aparat, MAGE-3 – angl. melanoma-associated antigen-3, TNFR-1 – angl. tumor necrosis factor receptor-1.

daje upanje za odkritje celotne sheme poti, ki vodi v celično smrt. Odpirajo se tudi nove možnosti reguliranja ter nadzorovanja celične smrti in posledično zdravljenja mnogih bolezni.

## ZAKLJUČEK

Dosedanje raziskave so potrdile vlogo GA v številnih celičnih procesih in boleznih. Mnogo raziskav tudi potrjuje, da GA lahko zrna-

va spremembe zunaj in znotraj celice. Vloga GA v vodenju celic v celično smrt ima velik klinični potencial pri zdravljenju različnih bolezni. GA je namreč potencialna tarča za zdravilne učinkovine, ki bi jih v prihodnosti lahko uporabili v boju proti rakavim in drugim obolenjem. Zato je za učinkovitejše odkrivanje in zdravljenje bolezni, poveza-

nih z GA, razumevanje njegovega delovanja zelo pomembno.

## ZAHVALA

Avtorici se zahvaljujeva prof. dr. Kristijanu Jezerniku in mag. Martini Bürger Lazar za koristne predloge pri pisanju članka.

## LITERATURA

1. Farquhar MG, Palade GE. The Golgi apparatus: 100 years of progress and controversy. *Trends Cell Biol.* 1998; 8 (1): 2–10.
2. Alberts B, Johnson A, Lewis J, et al. *Molecular biology of the cell.* 5th ed. New York: Garland Science; 2008. p. 908–1400.
3. Polishchuk RS, Mironov AA. Structural aspects of Golgi function. *Cell Mol Life Sci.* 2004; 61 (2): 146–58.
4. Rabouille C, Hui N, Hunte F, et al. Mapping the distribution of Golgi enzymes involved in the construction of complex oligosaccharides. *J Cell Sci.* 1995; 108 (Pt 4): 1617–27.
5. Reynders E, Foulquier F, Annaert W, et al. How Golgi glycosylation meets and needs trafficking: the case of the COG complex. *Glycobiology.* 2011; 21 (7): 853–63.
6. Appenzeller-Herzog C, Hauri HP. The ER-Golgi intermediate compartment (ERGIC): in search of its identity and function. *J Cell Sci.* 2006; 119 (Pt 11): 2173–83.
7. Machamer CE. Targeting and retention of Golgi membrane proteins. *Curr Opin Cell Biol.* 1993; 5 (4): 606–12.
8. Nilsson T, Warren G. Retention and retrieval in the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. *Curr Opin Cell Biol.* 1994; 6 (4): 517–21.
9. Rothman JE, Miller R, Urbani LJ. Intercompartmental transport in the Golgi complex is a dissociative process: facile transfer of membrane protein between two Golgi populations. *J Cell Biol.* 1984; 99 (1 Pt 1): 260–71.
10. McNew JA, Parlati F, Fukuda R, et al. Compartmental specificity of cellular membrane fusion encoded in SNARE proteins. *Nature.* 2000; 407 (6801): 153–9.
11. Trucco A, Polishchuk RS, Martella A, et al. Secretory traffic triggers the formation of tubular continuities across Golgi sub-compartments. *Nat Cell Biol.* 2004; 6 (11): 1071–81.
12. Mironov A Jr, Luini A, Mironov A. A synthetic model of intra-Golgi traffic. *FASEB J.* 1998; 12 (2): 249–52.
13. Luini A, Mironov AA, De Matteis MA, et al. The morpho-functional organization of secretory traffic. Here today, where tomorrow? *Med Secoli.* 2007; 19 (1): 29–54.
14. Farquhar MG. Progress in unraveling pathways of Golgi traffic. *Annu Rev Cell Biol.* 1985; 1: 447–88.
15. Mironov AA, Beznoussenko GV, Polishchuk RS, et al. Intra-Golgi transport: a way to a new paradigm? *Biochim Biophys Acta.* 2005; 1744 (3): 340–50.
16. Ellgaard L, Helenius A. Quality control in the endoplasmic reticulum. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003; 4 (3): 181–91.
17. Mironov A, Pavelka M. *The Golgi apparatus.* New York: Springer; 2008. p. 16–39, 585.
18. Gusarova V, Seo J, Sullivan ML, et al. Golgi-associated maturation of very low density lipoproteins involves conformation changes in apolipoprotein B, but is not dependent on apolipoprotein E. *J Biol Chem.* 2007; 282 (27): 19453–62.
19. Helms JB, Helms-Brons D, Brügger B, et al. A putative heterotrimeric G protein inhibits the fusion of COPI-coated vesicles. Segregation of heterotrimeric G proteins from COPI-coated vesicles. *J Biol Chem.* 1998; 273 (24): 15203–8.
20. Lane JD, Lucocq J, Pryde J, et al. Caspase-mediated cleavage of the stacking protein GRASP65 is required for Golgi fragmentation during apoptosis. *J Cell Biol.* 2002; 156 (3): 495–509.
21. Bivona TG, Pérez De Castro I, Ahearn IM, et al. Phospholipase Cgamma activates Ras on the Golgi apparatus by means of RasGRP1. *Nature.* 2003; 424 (6949): 694–8.
22. Yadav S, Linstedt AD. Golgi positioning. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011; 3 (5).
23. Hudoklin S, Zupančič D, Romih R. Maturation of the Golgi apparatus in urothelial cells. *Cell Tissue Res.* 2009; 336 (3): 453–63.

24. Višnjari T. Fiziološke in strukturne spremembe v urotelijskih celicah in vitro med diferenciacijo [diplomsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2009.
25. Kreft ME, Di Giandomenico D, Beznoussenko GV, et al. Golgi apparatus fragmentation as a mechanism responsible for uniform delivery of uroplakins to the apical plasma membrane of uroepithelial cells. *Biol Cell*. 2010; 102 (11): 593–607.
26. Ungar D. Golgi linked protein glycosylation and associated diseases. *Semin Cell Dev Biol*. 2009; 20 (7): 762–9.
27. Jaeken J. Congenital disorders of glycosylation (CDG): it's (nearly) all in it! *J Inherit Metab Dis*. 2011; 34 (4): 853–8.
28. Jaeken J, Vanderschueren-Lodeweyck M, Casaer P, et al. Familial psychomotor retardation with markedly fluctuating serum prolactin, FSH and GH levels, partial TBG-deficiency, increased serum arylsulphatase A and increased CSF protein: a new syndrome? *Pediatr Res*. 1980; 14: 179.
29. Morava E, Lefeber D. CDG – an update. *J Inherit Metab Dis*. 2011; 34 (4): 847–8.
30. Aebi M, Helenius A, Schenk B, et al. Carbohydrate-deficient glycoprotein syndromes become congenital disorders of glycosylation: an updated nomenclature for CDG. First International Workshop on CDGS. *Glycoconj J*. 1999; 16 (11): 669–71.
31. Foulquier F, Vasile E, Schollen E, et al. Conserved oligomeric Golgi complex subunit 1 deficiency reveals a previously uncharacterized congenital disorder of glycosylation type II. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103 (10): 3764–9.
32. Hansske B, Thiel C, Lübke T, et al. Deficiency of UDP-galactose 4-epimerase causes the congenital disorders of glycosylation type IIc. *J Clin Invest*. 2002; 109 (6): 725–33.
33. Tan J, Dunn J, Jaeken J, et al. Mutations in the MGAT2 gene controlling complex N-glycan synthesis cause carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type II, an autosomal recessive disease with defective brain development. *Am J Hum Genet*. 1996; 59 (4): 810–7.
34. De Praeter CM, Gerwig GJ, Bause E, et al. A novel disorder caused by defective biosynthesis of N-linked oligosaccharides due to glucosidase I deficiency. *Am J Hum Genet*. 2000; 66 (6): 1744–56.
35. Lübke T, Marquardt T, Ezzioli A, et al. Complementation cloning identifies CDC-11c, a new type of congenital disorders of glycosylation, as a GDP-fucose transporter deficiency. *Nat Genet*. 2001; 28 (1): 73–6.
36. Foulquier F, Ungar D, Rexnders E, et al. A new inborn error of glycosylation due to a Cog8 deficiency reveals a critical role of the Cog1-Cog8 interaction in COG complex formation. *Hum Mol Genet*. 2007; 16 (7): 717–30.
37. Kornak U, Reynders E, Dimopoulou A, et al. Impaired glycosylation and cutis laxa caused by mutations in the vesicular H<sup>+</sup>-ATPase subunit ATP6V0A2. *Nat Genet*. 2008; 40 (1): 32–4.
38. Van Beek P, Smets LA, Emmelot P. Changed surface glycoprotein as a marker of malignancy in human leukaemic cells. *Nature*. 1975; 253 (5491): 457–60.
39. Le Marer N, Stéhelin D. High alpha-2,6-sialylation of N-acetylglucosamine sequences in rat-transformed rat fibroblasts correlates with high invasive potential. *Glycobiology*. 1995; 5 (2): 219–26.
40. Ohtsubo K, Takamatsu S, Minowa MT, et al. Dietary and genetic control of gluco transporter 2 glycosylation promotes insulin secretion in suppressing diabetes. *Cell*. 2005; 123 (7): 1307–21.
41. Dische Z, Di Sant'Agnese P, Pallavicini C, et al. Composition of mucoprotein fractions from duodenal fluid of patients with cystic fibrosis of the pancreas and from control. *Pediatrics*. 1959; 24 (1): 74–91.
42. Schulz BL, Sloane AJ, Robinson LJ, et al. Glycosylation of sputum mucins is altered in cystic fibrosis patients. *Glycobiology*. 2007; 17 (7): 698–712.
43. Wang JH, Redmond HP, Watson RW, et al. Mechanisms involved in the induction of human endothelial cell necrosis. *Cell Immunol*. 1996; 168 (1): 91–9.
44. Romih R, Korošec P, de Mello W Jr, et al. Differentiation of the epithelial cells in the urinary tract. *Cell Tissue Res*. 2005; 320 (2): 259–68.
45. Jezernik K., Kreft ME. Tesnostične pregrade v našem telesu. *Med Razgl*. 2010; 49 (1): 51–62.
46. Kreft ME, Hudoklin S, Jezernik K, et al. Formation and maintenance of blood-urine barrier in urothelium. *Protoplasma*. 2010; 246 (1–4): 3–14.
47. Hudoklin S, Zupančič D, Romih R. Maturation of the Golgi apparatus in urothelial cells. *Cell Tissue Res*. 2009; 336 (3): 453–63.
48. Pšeničnik M, Jezernik K. The role of the Golgi apparatus during terminal differentiation of mouse urothelial surface cells. *Eur J Histochem*. 2000; 44 (4): 345–51.
49. Bassnett S. The fate of the Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum during lens fiber cell differentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1995; 36 (9): 1793–803.
50. Lu Z, Joseph D, Bugnard E, et al. Golgi complex reorganisation during muscle differentiation: visualization in living cells and mechanism. *Mol Biol Cell*. 2001; 12 (4): 795–808.
51. Gonatas NK, Stieber A, Gonatas JO. Fragmentation of the Golgi apparatus in neurodegenerative diseases and cell death. *J Neurol Sci*. 2006; 246 (1–2): 21–30.

52. Mukherjee S, Chui R, Leung SM, et al. Fragmentation of the Golgi apparatus: an early apoptotic event independent of the cytoskeleton. *Traffic*. 2007; 8 (4): 369–78.
53. Thompson JF, Scolyer RA, Kefford RF. Cutaneous melanoma. *Lancet*. 2005; 365 (9460): 687–701.
54. Mancini M, Machamer CE, Roy S, et al. Caspase-2 is localized at the Golgi complex and cleaves Golgin-160 during apoptosis. *J Cell Biol*. 2000; 149 (3): 603–12.
55. Chiu R, Novikov L, Mukherjee S, et al. A caspase cleavage fragment of p115 induces fragmentation of the Golgi apparatus and apoptosis. *J Cell Biol*. 2002; 159 (4): 637–48.
56. Nakagomi S, Barsoum MJ, Bossy-Wetzel E, et al. A Golgi fragmentation pathway in neurodegeneration. *Neurobiol Dis*. 2008; 29 (2): 221–31.
57. Fabris C, Valduga G, Miotto G, et al. Photosensitization with zinc (II) phthalocyanine as a switch in the decision between apoptosis and necrosis. *Cancer Res*. 2001; 61 (20): 7495–500.
58. Fadel M, Kassab K, Fadeel DA. Zinc phthalocyanine-loaded PLGA biodegradable nanoparticles for photodynamic therapy in tumor-bearing mice. *Lasers Med Sci*. 2010; 25 (2): 283–92.
59. Maag RS, Stuart WH, Machamer CE. Death from within: apoptosis and the secretory pathway. *Curr Opin Cell Biol*. 2003; 15: 456–61.

Prispelo 1.3.2012