Uloga gangliozida u mehanizmu inzulinske rezistencije

Bukulin, Dolores

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:546012

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Dolores Bukulin

Uloga gangliozida u mehanizmu inzulinske rezistencije

Završni rad

Mentor: doc. dr. sc. Valentina Pavić

Neposredni voditelj: dr. sc. Senka Blažetić

Osijek, 2017. godina

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Odjel za biologiju
Završni rad
Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Biologija

Uloga gangliozida u mehanizmu inzulinske rezistencije

Dolores Bukulin

Rad je izrađen: Zavod za biokemiju i ekofiziologiju biljaka
Mentor: doc. dr. sc. Valentina Pavić
Neposredni voditelj: dr. sc. Senka Blažetić

Sažetak:
Gangliozidi, kiseli glikosfingolipidi, lipidni su dijelovi stanične membrane koji su poznati kao modulatori transmembranskog signaliziranja. Brojna istraživanja provedena su na ulozi gangliozida u inzulinskoj rezistenciji, patološkom stanju kojeg karakterizira izostanak odgovora stanice ili tkiva na fiziološko lučenje inzulina. Dokazano je kako gangliozidi mogu uzrokovati inzulinsku rezistenciju neposredno, ali i posredno preko citokina TNFα. Neposredna rezistencija kao posljedica povećane ekspresije GM3, najjednostavnijeg gangliozida, podrazumjeva inhibiciju autofosforilacije inzulinskog receptora uslijed čega dolazi do prekida signalnog puta. Posredni utjecaj gangliozida na rezistenciju uključuje djelovanje TNFα, citokina imunosnoga sustava, koji povećava koncentraciju GM3 na staničnoj membrani adipocita. U ovom radu navedeni su mehanizmi i istraživanja koja podupiru navedene primjere i ističu važan utjecaj GM3 kao i TNFα u inzulinskoj rezistenciji, odnosno patologiji šećerne bolesti tipa 2.

Broj stranica: 14
Broj slika: 6
Broj tablica: 2
Broj literaturnih navoda: 29
Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: gangliozidi, GM3, inzulinska rezistencija, TNFα, šećerna bolest tipa 2

Rad je pohranjen u:
knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

BASIC DOCUMENTATION CARD
Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Department of Biology
Bachelor's thesis
Undergraduate university study programme in Biology

Scientific Area: Natural Sciences
Scientific Field: Biology

The role of gangliosides in insulin resistance

Dolores Bukulin

Thesis performed at: Sub-department of Biochemistry and Eco-physiology of Plants
Supervisor: Valentina Pavić, PhD, Assistant Professor
Assistant in charge: Senka Blažetić, PhD

Abstract:
Gangliosides, acid glycosphingolipids, are lipid components of the cell membrane known as transmembrane signal modulators. Numerous studies have been conducted on the role of gangliosides in insulin resistance, a pathological condition characterized by the absence of the cell or tissue response to physiological secretion of insulin. It has been shown how gangliosides can cause insulin resistance directly, but also indirectly through the cytokine of TNFα. Immediate resistence as a result of increased expression of GM3, the simplest ganglioside, implies the inhibition of insulin receptor autophosphorylation resulting in the signal path interruption. The mediating effect of gangliosides on resistence involves the action of TNFα, a cytokine immune system, which increases the concentration of GM3 on the adipocyte cell membrane. In this paper, the mechanisms and researches that support these examples are listed and they highlight the important influence of GM3 as well as TNFα in insulin resistance, or diabetes mellitus type 2.
Number of pages: 14
Number of figures: 6
Number of tables: 2
Number of references: 29
Original in: Croatian

Key words: gangliosides, GM3 insulin resistance, TNFα, diabetes mellitus type 2

Thesis deposited in:
the Library of the Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in the National and University Library in Zagreb in electronic form. It is also available on the website of the Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek.

Sadržaj

1.UVOD....1
1.1. Šećerna bolest tipa 1....1
1.2. Šećerna bolest tip 2....1
1.3. Inzulinski receptor....2
1.4. Građa stanične membrane – glikosfinfolipidi....4
2. OSNOVNI DIO....5
2.1. Gangliozidi....5
2.2. Mehanizam inzulinske rezistencije....7
2.3. Uloga gangliozida u inzulinskoj rezistenciji....8
2.4. Uloga faktora nekroze tumora – alfa u šećernoj bolesti tipa 2....10
2.5. Interakcija inzulinskog receptora s kaveolinima i GM3 gangliozidima....11
3.ZAKLJUČAK....12
4. LITERATURA....12

1.UVOD

Šećernu bolest ili dijabetes (lat. *diabetes mellitus*) možemo definirati kao skupinu kroničnih poremećaja metabolizma ugljikohidrata, masti i bjelančevina čija je temeljna značajka hiperglikemija (Damjanov i sur., 2014). Hiperglikemija je obično posljedica prevelikog izlučivanja inzulina, poremećaja u samom djelovanju hormona ili kombinacija ta dva faktora. Dugotrajna hiperglikemija za posljedicu ima oštećenje brojnih organa, osobito bubrega, očiju, živaca i krvnih žila. Učestalost šećernih bolesti je u porastu, a možemo ih podijeliti u četiri velike skupine: šećerna bolest tipa 1, šećerna bolest tipa 2, gestacijska šećerna bolest i drugi specifični tipovi šećerne bolesti (Damjanov i sur., 2014). Novija istraživanja pokazala su da je šećerna bolest tipa 3 zapravo Alzheimerova bolest (Kandimalla i sur., 2017).

1.1. Šećerna bolest tipa 1

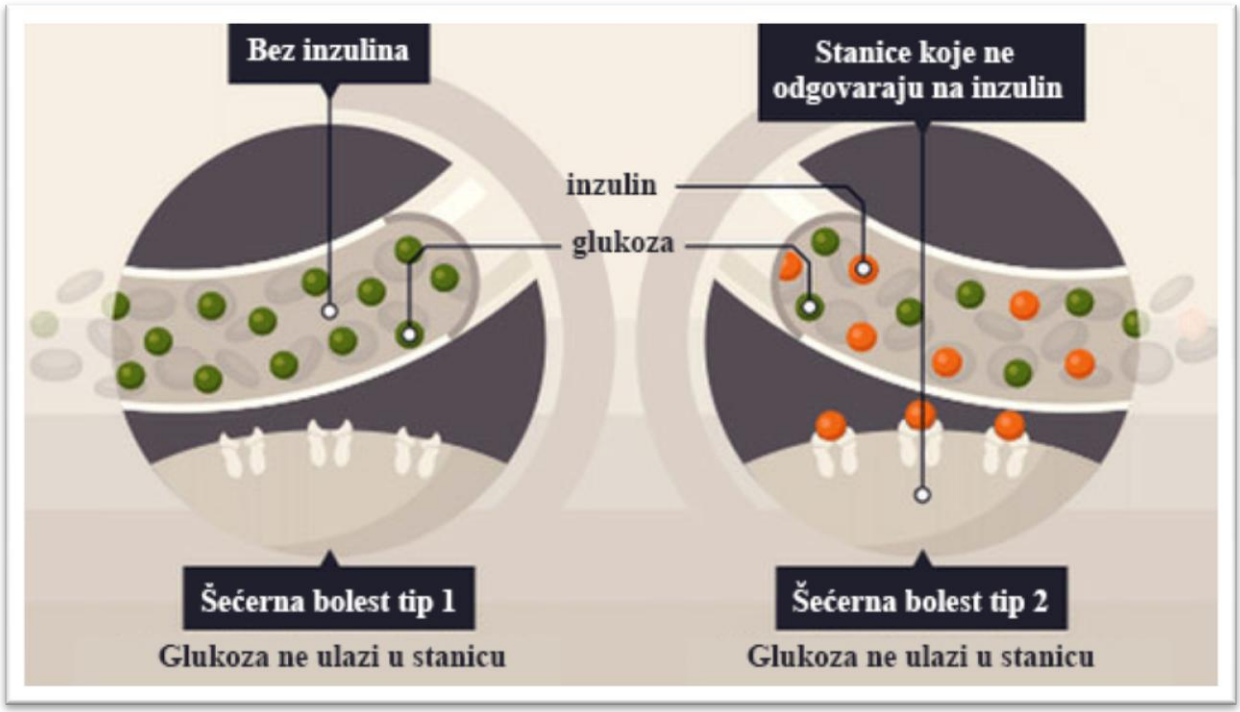
Šećerna bolest tipa 1 karakterizirana je deficitom inzulina koji nastaje zbog autoimunog uništenja β stanica Langerhansovih otočića gušterače. Javlja se kod genetski predisponiranih osoba, a može biti potaknuta čimbenicima iz okoliša (Severinski i sur., 2016).

Osobe s genetičkom predispozicijom imaju očuvane β stanice u trenutku rođenja, ali zbog autoimunosnih procesa razaranja javlja se šećerna bolest. Smatra se da su virusi ili neki čimbenici okoline odgovori za početak autoimunosnoga procesa. Smanjuje se masa β stanica kao i lučenje inzulina, iako je podnošenje glukoze još uvijek normalno. Tek kada bude uništeno 80% mase β stanica, javljaju se simptomi šećerne bolesti (Vrhovac i sur., 2008). Šećerna bolest tipa 1 je učestalija u zemljama Sjeverne Europe (Ruslami i sur., 2010).

1.2. Šećerna bolest tip 2

Šećerna bolest tipa 2 je patološko stanje neovisno o inzulinu. To je najčešća metabolička bolest u svijetu u kojoj, za razliku od tipa 1, lučenje inzulina odvija normalno, ali odgovor na inzulin izostaje (Severinski i sur., 2016) (slika 1). U podlozi stanja obično stoji inzulinska rezistencija, odnosno rezistencija perifernoga tkiva na sam hormon ili neadekvatni odgovor β stanica gušterače što dovodi do stanja u kojem je razina inzulina unutar referentnih vrijednosti ili malo viša od gornje granice. Šećerna bolest tipa 2 najčešće se pojavljuje u odraslih pretilih osoba, a rizik raste s dobi, debljinom i neadekvatnom prehranom te manjkom tjelesne aktivnosti. (Gamulin i sur., 2010). Prevalencija ovoga tipa šećerne bolesti iznosi 7%, u

starijim dobnim skupinama 20%, a u pretilih osoba više od 50% (Božikov i sur., 2002). Kod inzulinske rezistencije riječ je o poremećenom odgovoru stanica na hormon, uslijed kojeg dolazi do smanjenog ulaska glukoze u stanicu što za posljedicu ima niz drugih metaboličkih poremećaja. Većina bolesnika s dijagnosticiranom šećernom bolesti tipa 2 je pretilo, a incidencija raste kod bolesnika s centripetalnom pretilošću. Kod bolesnika s povećanim masnim tkivom veća je i razina masnih kiselina koje utječu na metabolizam glukoze u jetri. Nadalje, masno tkivo može endokrino izlučivati citokine koji se nazivaju adipokinima. Adipokini povećavaju osjetljivost na inzulin, ali je kod pretilih osoba ta funkcija znatno umanjena. Hiperinzulinemija je endokrini gušteračni odgovor na inzulinsku neosjetljivost (rezistenciju) koja se pojavljuje u sindromu pretilosti, u sindromu esencijalne hipertenzije te u sindromima i bolestima koje uključuju hiperkortizolizam kao patogenetsku sastavnicu (Gamulin i sur., 2011). Šećerna bolest tipa 2 geografski je više zastupljena u Kini i Indiji (Ruslami i sur., 2010).

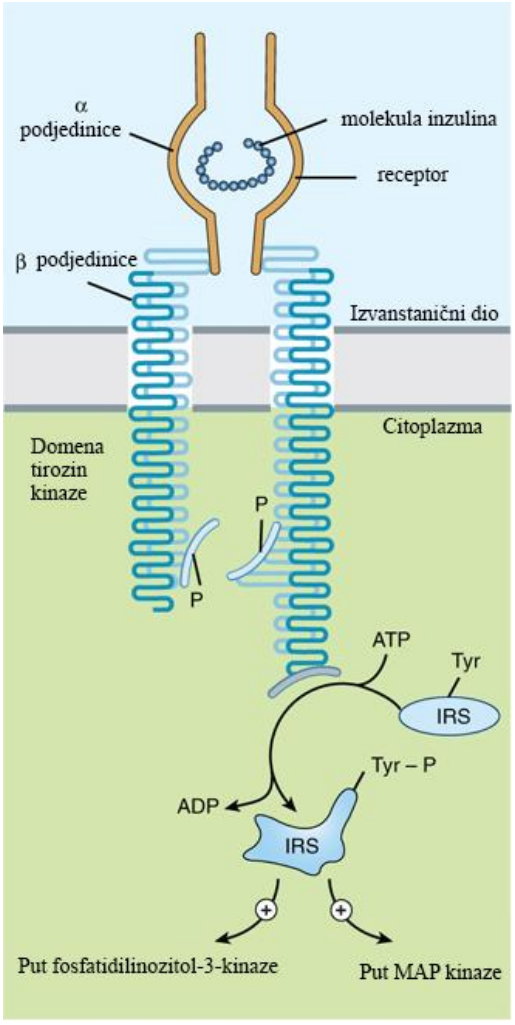


Slika 1. Prikaz odgovora stanica na inzulin kod šećerne bolesti tipa 1 i tipa 2 (Izvor: Web 1)

1.3. Inzulinski receptor

Inzulin je hormon koji luči gušterača na poticaj glukoze. Kada inzulin dospije u cirkulaciju veže se na stanice koje imaju odgovarajuće inzulinske receptore. Primarna tkiva s inzulinskim receptorima su jetra, mišići i masno tkivo. Inzulin se na receptor veže specifično i

s visokim afinitetom. Inzulinski receptor čine dva heterodimera koja su kovalentno povezana. Svaki heterodimer sadržava jednu alfa i jednu beta podjedinicu. Alfa podjedinica je u potpunosti izvanstanična i ona sadržava receptorsko mjesto na koje se veže ligand – inzulin. Beta podjedinica je membranski dio receptora (Slika 2). Aktivacija receptora kreće vezanjem inzulina za receptorsko mjesto, na alfa podjedinici. Vezanje dovodi do komformacijskih primjena uslijed kojih se stanične domene receptora, beta podjedinice približe jedna drugoj, međusobno fosforiliraju tirozinske dijelove te nizvodne proteine signalnoga puta (Katzung, 2011).



Slika 2. Shematski prikaz heterodimera inzulinskog receptora (Izvor: Web 2)

Postoje dva postreceptorska signalna puta. Prvi je fosforilacija inzulinskog receptorskog supstrata (eng. ***i**nsulin **r**eceptor **s**upstrat*, IRS*)* 1 i 2 i aktivacija fosfatidil-inozitol (PI) 3-kinaze. Navedeni signalni put regulira glukozne transportere (GLUT 1-5) koji su ovisni o inzulinu i putem kojih glukoza ulazi u stanice. Glukozni transporteri su u bazalnim uvjetima

smješteni u vezikule unutar stanice. Nakon vezanja inzulina na receptore dolazi do translokacije glukoznih transportera iz citoplazme na membrane stanica. Poremećaji u ovom mehanizmu vode do inzulinske rezistencije (Sudar i sur., 2006). Svaki član obitelji transportera, GLUT1 do GLUT5, sastoji se od samo jednoga polipeptidnog lanca dugog oko 50 aminokiselina. Svaki transporter glukoze ima 12 transmembranskih uzvojnnica (Berg i sur. 2013). Članovi te obitelji imaju specifične uloge (Tablica 1).

Tablica 1. Obitelj transportera glukoze (Izvor: Murray i sur., 2011)

Ime	**Tkivo**	**Napomena**
GLUT1	Sva tkiva sisavaca	Osnovni unos glukoze
GLUT2	Jetra i gušteračne B-stanice	U jetrima odstranjuje višak glukoze, u gušterači regulira lučenje inzulina
GLUT3	Sva tkiva sisavaca	Osnovni unos glukoze
GLUT4	Mišić i masne stanice	Količina u membrani mišića raste vježbama izdržljivosti
GLUT5	Tanko crijevo	Prvenstveno transporter fruktoze

Drugi signalni put podrazumijeva aktivaciju protein kinaze aktivirane mitogenom (MAP) posreduje samo mitogeni učinak inzulina, rast i proliferaciju stanica, i prokoagulantno djelovanje (Smirčić-Duvnjak, 2004).

1.4. Građa stanične membrane – glikosfinfolipidi

Stanična membrana svih eukariota građena je od proteina, ugljikohidrata i lipida. Glavni lipidi membrana sisavaca jesu fosfolipidi, glikosfingolipidi i kolesterol.

Fosfolipidi su lipidi koji, osim masnih kiselina i alkohola, sadržavaju i ostatak fosfatne kiseline, a učestalo sadržavaju i bazične skupine s dušikom. Glicerofosfolipidi su lipidi koji sadržavaju glicerol kao alkohol, dok je u sfingofosfolipidima to sfingozin. Glikolipidi ili glikosfingolipidi su lipidi koji sadržavaju neku masnu kiselinu, sfingozin te ugljikohidratni dio (Murray i sur., 2011).

Glikolipidi su najviše rasprostranjeni u živčanom sustavi, poglavito u CNS-u, ali može ih se pronaći u svim tkivima. Glikolipidi su smješteni vanjskom sloju stanične membrane, pa su im

šećerni ostatci sastavni dio ugljikohidratnog sloja stanične membrane (Murray i sur., 2011). Glavni glikolipidi su glikosfingolipidi. U skupinu glikosfingolipida ubrajaju se galaktozil-ceramid, glukozil-ceramid i gangliozidi. Okosnica sfingolipida je sfingozin. Palmitoil-coA i serin kondenziraju se u 3-ketosfinganin, koji se reducira u dihdirosfingozin prije pretvorbe u ceramid, lipid koji se sastoji od masne kiseline vezane za amnio-skupinu sfingozinske okosnice (Stryer i sur., 2013). U skupinu glikosfingolipida ubrajaju se galaktozil-ceramid, glukozil-ceramid i gangliozidi. Galaktozil-ceramid je najviše zastupljen u CNS-u, a znatno manje u ostalim tkivima. Osobito su česte molekularne vrste koje u građi sadržavaju neku C24 masnu kiselinu, posebice cerebronsku kiselinu (Murray i sur., 2011). Glukozil-ceramid najviše prevladava u neneuralnim područijima. Gangliozidi su najsloženiji glikosfingolipidi.

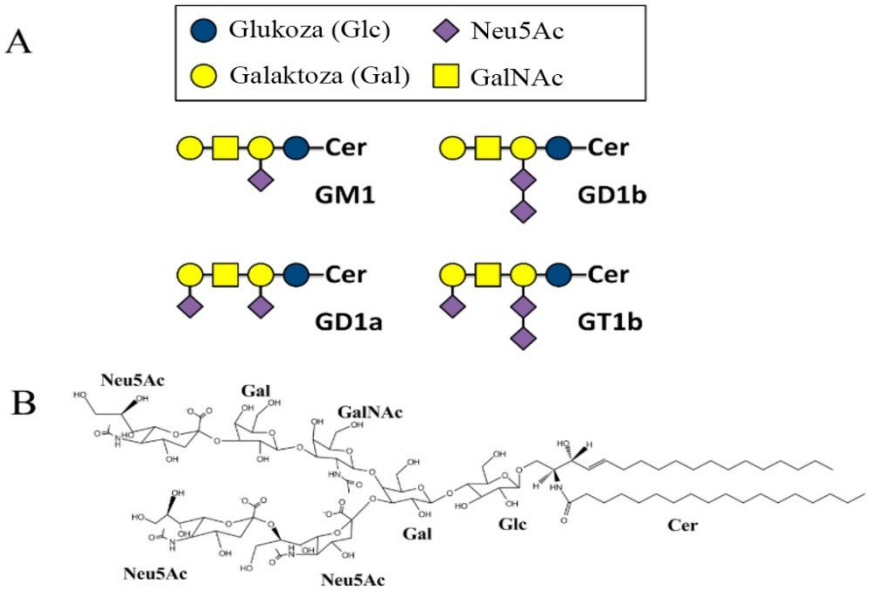
2. OSNOVNI DIO

2.1. Gangliozidi

Glikosfingolipidi koji sadrže jednu ili više sijalinskih kiselinu (N-acetilneuraminsku kiselinu) ili N-glikozilneuraminsku kiselinu u svojoj ugljikohidratnoj jedinici se nazivaju gangliozidi (Tagami i sur., 2002).

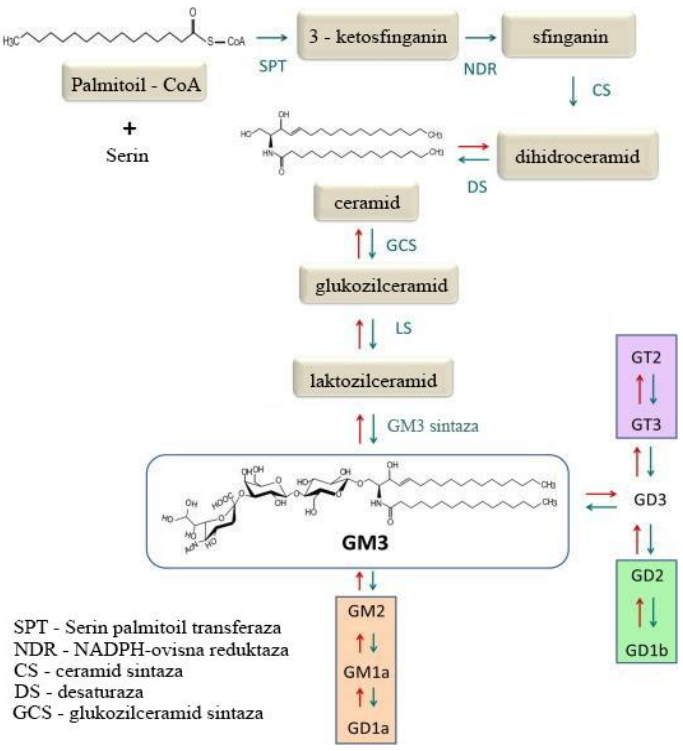
Gangliozidi se uglavnom sintetiziraju iz glukozilceramida, a također su u najvećim koncentracijama prisutni u živčanome tkivu (Murray i sur., 2011). Sinteza se odvija u endoplazmatskom retikulumu, a modifikacija u Golgijevom aparatu. Reakcija se katalizira nizom glikoziltransferaza. Uz izuzetak GM4, koji je izveden iz galaktozil-ceramida (GalCer), većina gangliozida se sintetizira iz laktoza-ceramida (LacCer) (Yu RK i sur., 2011).

U gangliozidima je oligosaharidni lanac povezan s terminalnom hidrosilnom skupinom ceramida preko glukoznog ostatka. Taj oligosaharidni lanac sadržava najmanje jedan kiseli šećer N-acetilneuraminat ili N-glikozilneuraminat. Ti se kiseli šećeri nazivaju sijalinskim kiselinama (Slika 3). Okosnica od devet ugljikovih atoma sintetizira se iz fosfoenolpiruvata, jedinica od tri C atoma i N-acetilmanozamin-6-fosfata, jedinice od 6 C atoma (Stryer i sur., 2013).



Slika 3. Struktura gangliozida (Izvor: Wang i sur., 2015)

Gangliozidi se sintetiziraju uređenim stupnjevitim dodavanjem šećernih ostataka na ceramid. Za sintezu tih složenih lipida potrebni su aktivirani šećeri UDP-glukoza, UDP-galaktoza i UDP-N-acetilgalaktozamin kao i CMP-derivati N-acetilneuraminata (Slika 4). Karakterizirano je više od 60 različitih gangliozida.



Slika 4. Sinteza gangliozida (Izvor: Lipina i sur., 2015)

Gangliozidi imaju specifični nomenklaturu. Nomenklatura se temelji na brzini kretanja u kromatografji i zove se nomenklatura po Svennerholmov (Svennerholm i sur., 1964). Tako se kod gangliozida GM3, slovo "G" odnosi na gangliozid, slovo "M" se na broj sijalniskih kiselina, odnosno "M" označava mono što znači samo da je u ovom gangliozidu prisutna jedna sijalinska kiselina. Kada gangliozid sadržava više sijalinskih kiselina, recimo dvije koriste se slovo "D", za tri "T", za četiri "Q", za pet "P". Oznaka na kraju naziva je broj neutralnih šećera koji su vezani na ceramid. Broj neutralnih šećera vezanih za ceramid se računa tako da se oznaka oduzme od broja pet, što znači da GM3 ima dva neutralna šećera vezana za ceramid (Svennerholm i sur., 1964; Vučemilović, 2014).

2.2. Mehanizam inzulinske rezistencije

Inzulinska rezistencija (IR) nastaje kao posljedica poremećaja koji se nalaze prije ciljnog tkiva na koje hormon djeluje, i to zbog poremećaja u samim stanicama ciljnoga tkiva, zbog smanjenog vezanja na inzulinske receptore ili postreceptorskog poremećaja (Vrhovac i sur., 2008). Udruženost IR s povišenim faktorom tumorske nekroze α, interleukinom 6, makrofazima i monocitima utvrđena je u mnogim studijama (Mlinar i sur., 2006). IR je popratno obilježje u mnogih pretilih bolesnika. Masno tkivo otpušta TNFα koji je barem djelomice odgovoran za razvoj IR kod pretilosti. TNFα je glavni čimbenik koji pokreće lučenje slobodnih masnih kiselina (FFA) iz masnoga tkiva u krvotok , a dokazano je da TNFα i FFA potiskuju inzulinsko signaliziranje (Mlinar i sur., 2006). Nadalje, dokazano je da masno tkivo, osim što prizvodi FFA, luči i endokrine medijatore (adipokine) koji mogu modulirati inzulinsko signaliziranje. Između mnogih molekula koje su uključene u inzulinsko signaliziranje, dokazano je da IRS-2, protein kinaza β izoform i transkripcijski faktor Foxo1 zauzimaju važnu ulogu jer disfunkcija ovih proteina rezultira inzulinskom rezistencijom *in vivo* (Schinner i sur., 2005). Inzulinska rezistencija može biti i genetski potaknuta. Protuinzulinska autoantijela pronađena su kod šećerne bolesti tipa 1. Postoje i različite mutacije samoga receptora. Heterozigotna mutacija inzulinskog receptora čini osnovnu za smanjenu fosforilaciju Tyr u β-podjedinici nakon vezanja inzulina i uzrokuje IR (Mlinar i sur., 2006). Zaključno, najvažniju ulogu u izulinskoj rezistenciji zauzima visceralna pretilost. Smatra se kako su najvažniji mhanizmi za razvoj IR povećano lučenje FFA, ali važnu ulogu mogu imati i genetski čimbenici.

2.3. Uloga gangliozida u inzulinskoj rezistenciji

Gangliozid GM3 je član metaboličke serije glikosfingolipida koji sadržavaju sijalinske kiseline. Gangliozidi zauzimaju mali postotak (1-2%) ukupnih staničnih lipida, ali veliki postotak kada je riječ o tkivima središnjeg živčanog sustav (Prokazova i sur., 2009). Velika koncentracija gangliozida u živčanom tkivu u usporedbi s ostalim tkivima (Tablica 2) predviđala je hipotezu o važnoj ulozi gangliozida u funkciji neurona i sinaptičkoj transmisiji. Međutim, studije su dale jako oskudne dokaze na tu hipotezu (Svennerholm, 1980).

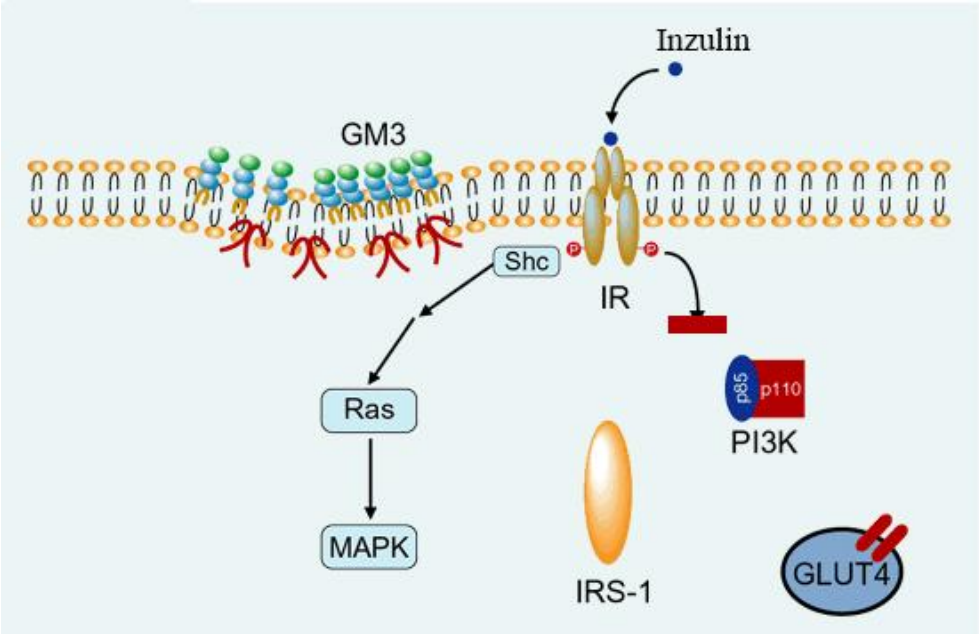
Tablica 2. Koncentrcija gangliozida u ljudskim ogranima (Izvor: Svennerholm, 1980)

Izvor	Gangliozidi nmol NeuAc/g
Mozak: kora bijela tvar	3000-3500 1000
Koža	30-35
Skeletni mišić	50-80
Jetra	50-100
Slezena	200-300
Posteljica	100-200
Bubreg	30-60

Gangliozidi su uključeni u mehanizme stanične signalizacije kao ligandi i kao modulatori receptorske aktivnosti. GM3 služi kao preteča za stvaranje složenijih gangliozida kao što je npr. GD1, odnosno gangliozida s više sijalinskih kiselina. U slučaju inzulinskog receptora, pronađeno je da sijalilparaglobozid i strukturno srodni GM3 gangliozid inhibiraju intrinzičnu aktivnost tirozin kinaze topljivih receptora. Nadalje, GM3 gangliozid umanji signalizaciju posredovanu inzulinom u kultiviranim stanicama. Ti rezultati i pronalaženje pojačane ekspresije GM3 sintaze u modelima inzulinske rezistencije doveli su do sugestije da prekomjerna ekspresija GM3 gangliozida može igrati ulogu u patogenezi dijabetesa tipa 2 kroz negativnu modulaciju signala inzulinskog receptora (Yamashita i sur., 2003).

Gangliozidi, konkretnije GM3, utječu na inzulinsku signalizciju pomoću fosforilacije supstrata inzulinskog receptora IRS-1 i IRS-2. U radu Tagami i sur., 2002 dokazano je da inzulinsku rezistenciju u adipocitima, tretiranim s TNFα, prati progresivno povećanje stanične površine GM3. To je rezultiralo povećanjem ekspresije staničnog GM3, aktivnosti GM3 sinteze i sadržaja mRNA GM3 sintaze, što ukazuje da TNFα nadzire GM3 sintezu na transkripcijskoj razini u kultiviranim adipocitima. Ista studija pokazala je da povećana razina GM3 u adipocitima utječe na povećanu fosforilaciju serinskog ostatka IRS-1. Supstrati inzulinskog receptora mogu biti fosforilirani na tiroznskim i serinskim ostacima. Fosforilacija serinskog ostatka za posljedicu ima inhibiciju djelovanja inzulinskog receptora. Dakle, fosforilacija serinskog ostatka IRS-1 potaknuta povećnom razinom GM3 direktno inhibira djelovanje inzulinskog receptora i time vodi do inzulinske rezistencije (Tagami i sur., 2002).

Važno je pokazati da farmakološka inhibicija sinteze GM3 pomoću inhibitora glukozilceramidne sinteze, kao što je AMP-DNM i D-PDMP, sprječava TNFα induciranu otpornost na inzulin.



Slika 5. Prekid inzulinske signalizacije na IRS putu uslijed ekspresije GM3 na membrani (Izvor: Web 3)

Drugi način na koji gangliozidi mogu utjecati na inzulinsku signalizaciju je direktno preko inzulinskog receptora gdje povećane razine GM3 inhibiraju autofosforilaciju inzulinskog receptora i fosforilaciju tirozinskog ostatka na IRS-1. Oba procesa, fosforilacija inzulinskog

receptora i tirozinskog ostatka IRS-1, esencijalni su dijelovi inzulinske signalizacije i kao takvi neophodni za daljnje fiziološko djelovanje (Yamashita i sur., 2003).

U radu Yamashita i sur., 2003 provedeno je istraživanje na mišu s isključenim genom za GM3 sinzatu (GM3S, također poznat kao i *Siat9*) kako bi se dokazao utjecaj GM3 na inzulinsku rezistenciju. Miševi koji nisu imali sposobnost sintetizirati GM3, uslijed nedostatka odgovarajuće sintaze, bilježili su poboljšanje fosforilacije inzulinskog receptor u skeletnim mišićima nakon vezanja liganda, odnosno inzulina. Štoviše, spomenuti miševi pokazali su bolji odgovor na glukozu i inzulinski test tolerancije. Nadalje, ova mutacija zaštitila je miševe od inzulinske rezistencije uzrokovane pretilošću (Yamashita i sur., 2003).

2.4. Uloga faktora nekroze tumora – alfa u šećernoj bolesti tipa 2

Faktor nekroze tumora – alfa (eng. ***t**umor **n**ecrosis **f**actor α*, TNFα) je signalizacijski protein, odnosno citokin, koji ima značajnu ulogu u upalnim procesima. Njegova primarna uloga je regulacija stanica imunosnoga sustava, ali i značajnu ulog ima i kod inzulinske rezistencije.

Nekoliko dokaza pokazalo je da TNFα predstavlja ključnu ulogu u inzulinskoj rezistenciji povezanoj s pretilošću. Prvo, prevelika ekspresija TNFα u masnom tkivu i inzulinska rezistencija su uobičajeno pronađene u različitim modelima gojaznosti glodavaca kao i kod ljudske pretilosti (Tagami i sur., 2002). Drugo, neutralizacija TNFα pomoću topljivog kompleksa TNFα receptora-imunoglobulin G kimeričkog proteina, pokazala je poboljšanje inzulinskog signaliziranja i inzulinske osjetljivosti pretilih i inzulin rezistentnih glodavaca (Tagami i sur., 2002). Štoviše, pretili miševi s genskim mutacijama koje zahvaćaju TNFα ili njegove receptore imaju izostanak inzulinske rezistencije. Treće, povišene razine TNFα uzrokuju povećanje koncentracije slobodnih masnih kiselina u serumu, a povećanje slobodnih masnih kiselina bilo potaknuto TNFα ili nekim drugim čimbenikom, povećava koncentraciju GM3 posredno djelujući na GM3 sintazu (Lipina i sur., 2015).

Kada je riječ o djelovanju TNFα kod inzulinske rezistencije, i dalje ostaje nejasno djeluje li TNFα direktno i tako smanjuje osjetljivost ili djeluje indirektno, preko posrednika.

Nedavno je ustanovljeno da je metabolizam gangliozida reguliran barem jednim dijelom pomoću TNFα (Tagami i sur., 2002). Naime, povišena koncentracija TNFα za posljedicu je imala povećanu ekspresiju GM3. Predloženo je djelovanje TNFα na gene za transkripciju GM3, odnosno povećana koncentracija mRNA za GM3 što dovodi do porasta koncentracije

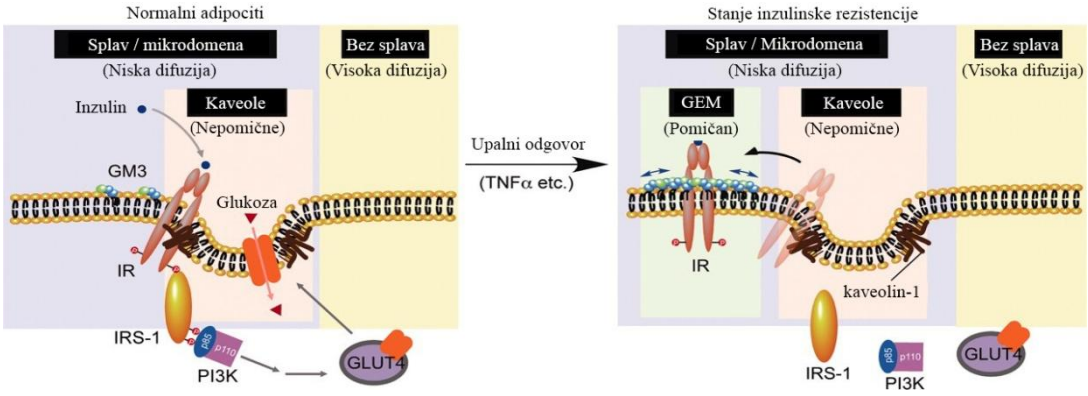
GM3 u stanici (Tagami i sur., 2002). Uloga gangliozida u inzulinskoj rezistenciji dugo je ispitivana hipoteza. Općenito, gangliozidi su uključeni u signalnu transdukciju preko njihove interakcije s receptorima. Postavlja se pitanje mehanizma djelovanja gangliozida u inzulinskoj rezistenciji nakon što je njihova ekspresija potaknuta TNFα.

2.5. Interakcija inzulinskog receptora s kaveolinima i GM3 gangliozidima

Kaveolini su integralni proteini stanične membrane, molekularne mase 21 kDa. Postoje tri homologna gena koji kodiraju njihovu ekspresiju u stanicama: Cav1, Cav2 i Cav3. Proteinske dijelove koji se nalaze na lipidnim splavima (eng.lipid rafts) čine upravo kaveolini koji se onda nazivaju kaveoli. Kaveole formiraju posebne invaginacije na staničnoj membrani. Najveća koncentracija kaveola nalazi se u adipocitima (Lipina i sur., 2015).

Receptori inzulina u adipocitima lokalizirani su u kaveolinom obogaćenoj mikrodomeni membrane (CEM). Dokazano je da poremećaj integriteta CEM-ova dovodi do prekida transdukcije signala od inzulinskog receptora nakon vezanja liganda (Gusstavsno i sur., 1999). Naime, za integritet i funkciju kaveolina potreban je kolesterol. Bilo koji uzrok nedostatka kolesterola na staničnoj razini ometa funkciju kaveolina. Ista studija dokazala je da farmakološka deplecija kolesterola, postignuta beta-ciklodekstrinom, uzrokuje gubitak funkcije kaveolina i posljedično ometa inzulinski signalni put u adipocitima.

Novija istraživanja pokazala su kako se GM3 natječe s kaveolinima na vezno mjesto inzulinskog receptora. Povećana ekspresija GM3, uslijed djelovanja TNFα ili palmitata, može promicati redistribuciju inzulinskih receptora iz CEM regije i na taj način onemogućiti signalizaciju (Yamashita i sur., 2003) (Slika 6).



Slika 6.Uloga kaveolina u adipocitima kod inzulinske signalizacije u fiziološkom stanju i stanju inzulinske rezistencije (Izvor: Web 4)

3.ZAKLJUČAK

Inzulinska rezistencija patološko je stanje u sklopu šećerne bolesti u kojem izostaje odgovor stanica na inzulin. Studije se potvrdile da je inzulinska rezistencija usko povezana s visceralnom adipoznošću. FFA i adipokini koje luče stanice masnoga tkiva umanjuju osjetljivost na inzulin. Masno tkivo također otpušta i velike količine citokina TNFα koji može biti neposredno odgovoran za IR, ali može i posredno tako da djeluje na masno tkivo i potiče otpuštanje FFA. Inzulinska rezistencija nestaje u gotovo svih bolesnika koji izgube na tjelesnoj težini (Mlinar i sur., 2006).

TNFα, osim svoga autokrinog utjecaja na adipozno tkivo, može djelovati i parakrino na molekularnoj razini, potičući ekspersiju gangliozida. Gangliozidi su kiseli glikosfingolipidi, sastavni dijelovi stanične membrane. Najpoznatiji predstavnik gagngliozida, GM3, ima važnu ulogu kod inzulinske rezistencije. Tagami i suradnici 2002. dokazali su da GM3 potiče fosforilaciju serinskog ostatka IRS-1 što za posljedicu ima inhibiciju rada inzulinskog receptora. Osim što djeluju na nizvodne proteine inzulinskog signalnoga puta, gangliozidi mogu djelovati i direktno na inzulinski receptor prije početka transdukcije. Njihova povećana ekspresija inhibira autofosforilaciju inzulinskog receptora koja je nužna za početak signaliziranja (Tagami i sur., 2002). Kasnije je navedeno potkrijepljeni istraživanjem Yamashita i suradnika 2003. u kojem su miševima isključili gen za GM3 sintazu te su isti bilježili poboljšanje fosforilacije inzulinskog receptora (Yamashita i sur., 2003).

Zaključno, najveću ulogu u inzulinskoj rezistenciji ima masno tkivo, zbog lučenja slobodnih masnih kiselina, ali i TNFα. Međutim TNFα može djelovati na cijeli niz molekula, između ostalih i na gangliozide. Gangliozidi, poglavito GM3 potiču rezistenciju tako što inhibiraju aktivaciju inzulinskog receptora, ali i nizvodne korake signalnoga puta. Uloga gangliozida u inzulinskoj rezistenciji danas je dokazana hipoteza brojnim istraživanjima.

4. LITERATURA

Božikov V, Coce F, Hančević J. 2002. *Dijabetičko stopalo*, Zagreb, Medicinska naklada, 6-10

Damjanov I, Seiwerth S, Jukić S, Nola M. 2014. *Patologija*, Zagreb, Medicinska naklada, 516-522

Gamulin S, Marušić M, Kovač Z. 2011. *Patofiziologija*, Zagreb, Medicinska naklada, 378-380

Gustavsson J, Parpal S, Karlsson M, Ramsing C, Thorn H, Berg M, Lindroth M, Peterson KH, Magnusson KE, Stralfors P. *Localization of the insulin receptor in caveolae of adipocyte plasma membrane.* Faseb J 1999;13(14):1961-1971

Kabayama K, Sato T, Saito K, Loberto N, Prinetti A, Sonnino S, Kinjo M, Igarashi Y, Inokuchi J. *Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2007;104(34):13678-13683

Kandimalla R, Thirumala V, Reddy H. *Is Alzheimer's disease Type 3 Diabetes?* Biochimica et Biophysica Acta (BBa) – Molecular Basis of Disease 2017;1863(5):1078-1089

Katzung BG i urednici, 2011. *Temeljna i klinička farmakologija*. Zagreb, Medicinska naklada, 730-731

Lipina C, Hundal SH. *Gangliosides GM3 as a gatekeeper of obesity-associated insulin resistance: Evidence and mechanisms*. FEBS Letters 2015;589(21): 3221-3227

Mlinar B, Merc J, Pfeifer M. *Molekularni mehanizam inzulinske rezistencije, pretilosti i metaboličkog sindrom.*, Biochemia Medica 2006;16(1):8-24

Murray KR, Bothman K, Bender D. 2011. *Harperova ilustrirana biokemija*. Zagreb, Medicinska naklada, 126-130

Prokazova NV, Samovilova NN, Gracheva EV, Golovanova NK. *Ganglioside GM3 and its biological Functions*, Biochemistry, 2009;74(3):235-249

Ruslami R, Aarnoutse RE, Alisjahbana B, van der Ven AJ, van Crevel R. *Implications oft he global increase of diabetes for tuberculosis control and patient care*. Tropical Medicine and International Health 2010;15(11):1289-1299

Schinner S, Scherbaum WA, Bornstein SR, Barthel A. *Molecular mechanisms of insulin resistance*. Diabet Med 2005;22(6):674-682

Severinski, S, Butorac Ahel, I, Božinović I. *Tip 1 šećerna bolest u dječjoj dobi*. Medicina Fluminensis 2016;52(4):467-476

Smirčić-Duvnjak L. *Patofiziologija metaboličkog sindroma*. Medicus 2004;13(2):15-25

Stryer J, Berg J, Tymoczko J. 2013, *Biokemija*, Zagreb, Školska knjiga, 456, 736

Sudar E, Velebit J, Isenović RE. *Signalni put insulina u ćelijama skeletnih mišića*. Beograd, Glasilo Podružnice Srpskog lekarskog društva Zaječar 2006;31(4):180-185

Svennerholm L, Mandel P, Dreyfus H, Urban PF. 1980. *Structure and Function of Gangliosides*. New York, Springer US, 533-544

Svennerholm L. *The gangliosides*. Journal of lipid research 1964;5(2):145-155

Tagami S, Inokuchi JJ, Kabayama K, Yoshimura H, Kitamura F, Uemura S, Ogawa C, Ishii A, Saito M, Ohtsuka Y, Sakaue S, Igarashi Y. *Ganglioside GM3 participates in pathological Condition of insulin Resistance*. The Journal of Biological Chemistry 2002;277(5):3085-3092.

Vrhovac B, Jakšić B, Reiner Ž, Vucelić B. 2008. *Interna medicina*, Zagreb, Medicinska biblioteka, 1244-1264

Vučemilović H. *Izražaj gangliozida GM3 i njegovih sfingolipidnih preteča u mišiću na štakorskom modelu šećerne bolesti tipa 2*, diplomski rad, 2014

Wang Y, Kraut R, Mu Y. *Aβ1-25-Derived Sphingolipid-Domain Tracer Peptide SBD Interacts with Membrane Ganglioside Clusters via a Coil-Helix-Coil Motif*. Int. J. Mol. Sci. 2015;16(11):26318-26332

Yamashita T, Hashiramoto A, Haluzik M, Mizukami H, Beck S, Norton A, Kono M, Tsuji S, Daniottis JL, Werth N, Sandhoff R, Sandhoff K, Proia RL. *Enhanced insulin sensitivity in mice lacking ganglioside GM3*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2003;100(6):3445-3449

Yu RK, Tsai Y-T, Ariga T, Yanagisawa M. *Structures, biosynthesis, and functions of gangliosides*—An overview. Journal of oleo science 2011;60(10):537-544

Web izvori

Web 1: https://cdn.stemcellthailand.org/wp-content/uploads/2012/07/types-of-diabetes-type1-vs-type2.jpg

Web 2: www.accesspharmacy.com

Web 3: http://glycoforum.gr.jp/science/word/glycopathology/GD-B03E.html

Web 4: http://www.pnas.org/content/104/34/13678.figures-only