

# Distribucija gangliozida u mozgu štakora oboljelih od dijabetesa tipa 2

---

Žiroš, Ana

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2018**

*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:181:184246>

*Rights / Prava:* [In copyright/Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-20**



**ODJELZA  
BIOLOGIJU**  
**Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek](#)





Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

UNIVERZITET  
JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU  
ODJEL ZA BIOLOGIJU

**Preddiplomski sveučilišni studij Biologija**

**Ana Žiroš**

**Distribucija gangliozida u mozgu štakora oboljelih od dijabetesa  
tipa 2**

**Završni rad**

**Osijek, 2018.**



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

ICA

Završni rad

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Odjel za biologiju

Preddiplomski sveučilišni studij Biologija

Znanstveno područje: Prirodne znanosti

Znanstveno polje: Biologija

## Distribucija ganglioza u mozgu štakora oboljelih od dijabetesa tipa 2

Ana firo—

**Rad je izrađen na:** Zavodu za zoologiju, Odjel za biologiju

**Mentor:** Prof. dr.sc. Marija Heffer

**Neposredni voditelj:** Doc.dr. sc. Irena Labak

### Kratak sažetak završnog rada

Gangliozi, vrsta glikosfingolipida, izrafleni su u velikom broju u mozgu kao i u drugim tkivima, organima i stanicama. Razna istraživanja su pokazala njihov raspored i količinu u normalnom mozgu te mozgu oboljelih od dijabetesa tipa 2. GM3 se u većini istraživanja navodi kao gangliozid koji sudjeluje u stvaranju inzulinske rezistencije, a time i u patofiziologiji dijabetesa tipa 2, što je detaljnije razjašnjeno u tekstu.

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Ključne riječi:** -takori, dijabetes tip 2, gangliozi, GM3, mi-evi

**Rad je pohranjen:** na mrežnim stranicama Odjela za biologiju te u Nacionalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Nacionalne i sveučilišne knjižnice u Zagrebu.



Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

#### BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Department of Biology

Undergraduate university study programme in Biology

Scientific Area: Natural Sciences

Scientific Field: Biology

#### Bachelor's thesis

### Distribution of gangliosides in the rat's brain suffering from type 2 diabetes

Ana firo—

**Thesis performed at:** Department of Biology, J.J. Strossmayer University in Osijek Sub-department of the Zoology

**Supervisor:** Pf.D. Marija Heffer, Professor

**Cosupervisor:** Irena Labak, PhD, Assistant Professor

#### Short abstract

Gangliosides, the subgroup of glycosphingolipids, are expressed mostly in the brain. We can also find them in other tissues, organs, and cells. Various research shows their distribution and their amount in normal brain and in brain of people who suffer from type 2 diabetes. GM3 is in most studies referred as ganglioside that is involved in insulin resistance, and in the pathophysiology of type 2 diabetes too, which is in detail explained below.

**Original in:** Croatian

**Key words:** rats, diabetes type 2, ganglioside, GM3, mice

**Thesis deposited:** on the Department of Biology website and the Croatian Digital Theses Repository of the National and University Library in Zagreb.



 PDF Complete

*Your complimentary  
use period has ended.  
Thank you for using  
PDF Complete.*

**[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)**

Teška bolest (lat. *diabetes mellitus*) definiramo kao skup poremećaja u metabolizmu bjelančevina, masti i ugljikohidrata, te se smatra petim najčešćim uzrokom smrti u svijetu (Shi i Hu 2014). Moflemo ju podijeliti u četiri skupine, od kojih klinički dominira dijabetes tipa II, te se u pretkliničkom stadiju inzulinska rezistencija (IR) javlja kao skup znakova i sindroma koji nastaju zbog neispravnog izlaganja inzulina. Utjecaj dijabetesa na srednjeg flivani sustav postalo je veliko područje interesa, te su do sada provedena brojna istraživanja koja pokazuju veliku promjenu metabolizma dijabetika kog mozga (Mans i sur. 1988; Krukoff i Patel 1990). Pokazalo se kako koncentracija glukoze u dijabetiku kom mozgu opada kao posljedica hiperglikemije, te utječe na metabolizam neurotransmitera u mozgu (Mooradian i Morin 1991; Bellush i Reid 1991). Broj oboljelih u konstantnom je porastu, te prema istraživanjima Svjetske zdravstvene organizacije (WHO, eng. *World Health Organization*) danas od dijabetesa pati više od 400 milijuna ljudi u svijetu, od čega sve više djece (Web1).

Hiperglikemija biva najčešći uzrokovan nedovoljnim djelovanjem ili lute enjem inzulina, no moguće je i kombinacija oba poremećaja (Kokić 2009). S ciljem identificiranja mehanizama koji mogu postaviti temelje za hiperglikemiju te pomoći razvijanju novih terapija za liječenje dijabetesa, razvijeni su razni flivotinjski modeli za istraživanje dijabetesa. Također se pokazao kao najdominantniji model zbog karakteristika navedenih u dalnjem tekstu, te ga PubMed navodi kao glavnu eksperimentalnu flivotinju u više od milijun istraživanja.

Gangliozidi su glavni glikolipidi neuronskih plazmatskih membrana. Njihova hidrofobna membranska sidra, ceramidni oстатci, nastaju u endoplazmatskom retikulumu (ER), galaktozacija ceramida odvija se na Golgi i trans-Golgi mreži (TGN, eng. *trans-Golgi network*), a njihova konstitutivna degradacija uglavnom u endolizosomskom odjeljku (Kolter i Sandhoff 1999). Iako se u centralnom flivnom sustavu nalaze mnogobrojni gangliozidi, dominantna su samo četiri: GM1, GD1, GD1b i GT1b. GM1 se u flivnom sustavu nalazi preteflito oko sinapsi i djeluje kao membranski stabilizator koji blokira neuronsku stanu smrti, te pri dijabetu koji hiperglikemiji utječe na degeneraciju neurona. Najjednostavniji gangliozid, GM3, ima važnu ulogu u mehanizmu djelovanja inzulinskih receptora, i njegova signalizacija proizlazi iz glikosfingolipidno obogaćene membranske membrane (lipidnih splavi) koji sadrže gangliozide. Smanjenje njegove koncentracije bitno smanjuje inzulinskiju rezistenciju, stoga je GM3 gangliozid opisan kao negativni regulator signalizacije inzulinskog receptora. Također je

a autofosforilaciju topljivih receptora, -to upu uje na receptora (Nojiri i sur. 1991).

U radu je detaljnije opisana povezanost GM3 gangliozida s IRS-1 (eng. *insulin receptor substrate 1*) te kako preko signalne kaskade IR-IRS-PI3-kinaza (IR ó *insulin receptor* -> IRS ó *insulin receptor substrate* -> PI3 kinaza) utje e na inzulinsku rezistenciju te kako se distribuiraju gangliozidi pri normoglikemiji (u zdravom mozgu) te u hiperglikemiji, tj dijabeti kom mozgu.

## 2. OSNOVNI DIO

### 2.1. Klasifikacija šećerne bolesti

Simptomi –e erne bolesti karakterizirani su naglim gubitkom tjelesne tefline koji se javlja unato pove anoj gladi i fle i, konstantnim stvaranjem osje aja umora te estim uriniranjem (Web1; Koki 2009). Tolerancija glukoze ima tri stupnja:

- 1) normoglikemija
- 2) IGT ili eng. *impaired glucose tolerance*
- 3) –e erna bolest.

TM erna bolest može se podijeliti u 4 skupine: –e erna bolest tip I, –e erna bolest tip II, drugi specifi ni tipovi te gestacijska –e erna bolest.

Tip I –e erne bolesti preteflito se razvija u djetinjstvu, te je poznat kao juvenilni tip dijabetesa. Unato vjerovanju da bolest ima nagli po etak, autoimuni proces zapo inje godinama ranije. Nastaje kao posljedica autodestrukcije -stanica Lagerhansovih oto i a, te obuhva a 5-10% ukupnih bolesnika sa –e ernom bole– u (Tateishi i sur. 2008). Bolest se o ituje hiperglikemijom i ketoacidozom nakon –to je vi-e od 90% -stanica uni-teno, a geneti ka podloga bolesti povezana je s HLA lokusom na kromosomu 6p21. U bijelaca vi-e od 90% bolesnika posjeduje HLA-DR3 ili HLA-DR4 alele, ili oba, dok ih op a populacija posjeduje oko 40%. Ukoliko se –e erna bolest tipa I pojavi u starijoj dobi, mogu je razvoj Gravesove, Addinsonove te drugih autoimunih bolesti.

TM erna bolest tipa II obuhva a 90-95% bolesnika. Ve ina oboljele populacije starija je od 40 godina, no zbog vo enja nezdravog na ina flivota i manjka tjelesne aktivnosti nerijetko se pojavljuje i u dje joj te adolescentskoj dobi. Uzrokovana je kombinacijom inzulinske

tijelo ne može iskoristavati inzulin kojega proizvodi. U pretilo, a kao odgovor nastaje stanje hiperinzulinizma

kojim organizam pokušava održati normalne razine glukoze u krvi. Na posljetku dolazi do hiperglikemije i pada razine inzulina.

U druge specifične tipove pripadaju etiološki svrstani tipovi – e erne bolesti, poput monogenetskih defekta – stanica, genetičkih defekta u inzulinskoj aktivnosti, bolesti egzokrinog dijela guštera i drugi. Tako je erna bolest tako da se može pojaviti i uz različite genetičke sindrome, poput Downovog ili Klinefelterovog sindroma.

Gestacijska – erna bolest pojavljuje se kao odgovor na netoleranciju glukoze koja nastaje u vrijeme trudnoće. U većini slučajeva razina glukoze normalizira se nakon porođaja, no neke bolesnice i dalje pokazuju znakove poremećenog metabolizma glukoze i nakon trudnoće (Damjanov i sur. 2014).

### 2.1.1. Patofiziologija dijabetesa tipa 2

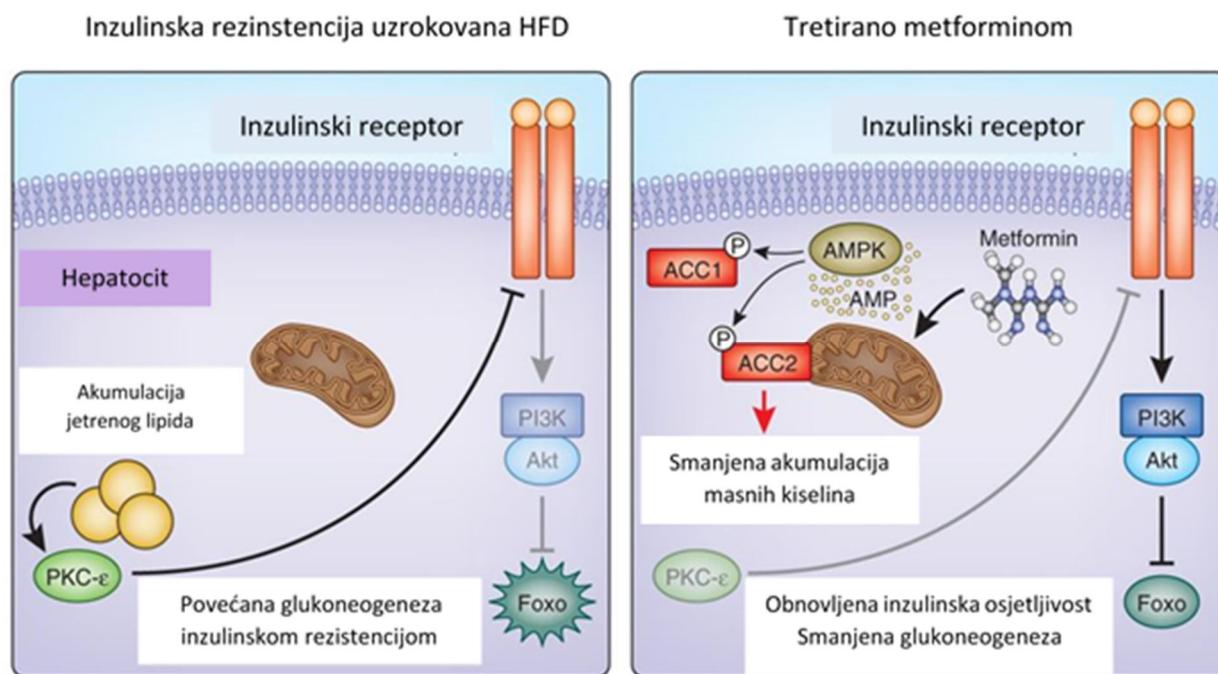
Dijabetes tipa 2 je najčešći oblik dijabetesa i ja je patofiziologija dosta sloflena zbog uključenosti brojnih poremećaja fizioloških mehanizama u njenoj nastanak. Najvažniji od mehanizama su neenzimska glikozilacija proteina, aktivacija protein-kinaze C te unutarstani na hiperglikemiju s poremećenim metabolizmom poliolova (Damjanov i sur. 2014). Karakterizira ga pretilost, a raspodjela masnog tkiva kao zalihe energije i kao organa koji komunicira s ostalim organima i tkivima u tijelu, u organizmu igra bitnu ulogu.

Tijekom ove bolesti, zbog inzulinske rezistencije dolazi do hiperglikemije koja mora biti posljedica pojava anoga stvaranja glukoze procesom glukoneogeneze u jetri, kao i razgradnje glikogena procesom glikolize. Inzulinska rezistencija zapravo predstavlja odgovor inzulinskog receptora na inzulin koji je puno manji nego što bi trebao biti u normalnim uvjetima. Zbog slabijeg ulaska glukoze u periferna tkiva, dolazi do pojava avanja direktnog lutejnog inzulina iz guštera (Kokić 2013). Osim inzulinske rezistencije, moguće je i rezistencija na leptin koja dovodi do nakupljanja lipida u mišićima, jetri, gušteru i te srcu. Osim pretilosti kao glavnog imbenika inzulinske rezistencije, navodi se i oksidativni stres, to nije slobodni kisikovi radikali (ROS, eng. *Reactive oxygen species*). Te jedinke otežavaju DNA, a nastanak velikih količina zaprežnog inje zbog hiperglikemije te visoke koncentracije masnih kiselina, koje fiziološki mehanizmi ne uspiju neutralizirati i odstraniti u potpunosti (Kokić 2013; Valko i sur. 2007).

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Osim rada na intenzivnom smanjenju tjelesne tefine, pove anom fizi kom aktivno – u i kontroliranom prehranom (kontrola unosa ugljikohidrata, masti i kolesterola, soli i alkohola) osobama oboljelih od dijabetesa tipa 2 prilikom lije enja daju se inzulinski pripravci, betacitotropni ili nebetacitotropni lijekovi.

Metformin je jedan od zna ajnih nebetacitotropnih lijekova koji djeluje s ciljem smanjivanja otpornosti na inzulin u perifernim tkivima i jetri (Slika 1). Ujedno smanjuje i resorpciju glukoze u crijevima (Zja i -Rotkovi 2009). Rösen i Wiernspergen (2006) su istraflivanjem na –takorima dokazali da lije enjem ovim lijekom dolazi do pove avanja antioksidativne aktivnosti, –to upu uje da metformin utje e na redukciju oksidativnog stresa koji se smatra jednim od imbenika inzulinske rezistencije. Time ujedno smanjuje i rizik od nastajanja dijabetesa tipa 2, kao i ostalih poreme aja i komplikacija koji su vezani uz ovu bolest dana–njice. Glavni predstavnik betacitotropnih lijekova je liraglutid koji pobolj–ava funkciju i masu beta stanica. Osim toga, umanjuje apetit te time indirektno utje e na tjelesnu masu. Djeluje tako da inhibira dipeptidil-peptidazu-4 ili DPP-4 pri emu dolazi do smanjenja koncentracije –e era u krvi (Novak i Metelko 2011; Montanya i Sesti 2009).



**Slika 1.** Djelovanje metformina na sniflavanje akumulacije lipida i vra anje inzulinske osjetljivosti (Preuzeto i prilago eno prema Shaw 2013)

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

frivolinjski model dijabetesa tipa 2 uključuju modele inzulinske rezistencije i/ili modele s disfunkcionalnim beta stanicama jetre. Metabolička fiziologija -takora u mnogo emu odgovara ljudskom organizmu, uključujući i djelovanje raznih imbenika (npr. toksina, stresa, cjepliva, itd.) na oblikovanje bolesti (Iannaccone i Jacob 2009), zbog čega su vrlo korišteni u istraživanjima povezanim s dijabetesom (Pokorski i sur. 2018; Mayyas i sur. 2018; Chao i sur. 2018; Romano i sur. 2017). Takvi modeli su pretili, -to odražava ljudsko stanje u kojem je pretilost povezana s razvojem dijabetesa tipa 2. Vrsta -takora Zucker, nastala 1961. godine nakon kriflanja Merckovog M-soja i Sherman -takora, posjeduje mutirani receptor leptina (Phillips i sur. 1996) koji uzrokuje hiperfagiju, zbog čega -takori postaju pretili nakon 4 tjedna starosti. Takvi -takori su hiperinzulinemični, hiperlipidemični i hipertenzivni, te imaju nisku toleranciju glukoze (Srinivasan i Ramarao 2007).

Po etkom 20. stoljeću, Reed i sur. (2000) objavljaju novi -takorski model za istraživanje dijabetesa tipa 2, poznat kao HFD/STZ (eng. *high-fat diet/streptozotocin-diabetic rat*) model -takora, tj. općeniti model za dijabetes tipa 2. Cilj njihova istraživanja bio je razviti model -takora koji simulira prirodnu patologiju progresije dijabetesa, od preddijabetesnog stanja i/ili inzulinske rezistencije na stanje dijabetesa tipa 2 i hipoinzulinemije, u kratkoj vremenskoj skali. Nakon par dana izloženosti STZ tretmanu, -takori koji su imali povremenu razinu glukoze u krvi uključeni su u studiju i testirani na metformin. Metformin inducira snižavanje razine glukoze u krvi, -to je dodatno utvrdilo HFD / STZ model kao -takorski model dijabetesa tipa 2 koji je relevantan za ljudsko stanje.

U kognitivno-psihološkim istraživanjima, -takor se pokazao kao superiorniji i inteligentniji model od ostalih organizama, jer je u mogunosti svladati više problemskih zadataka koji su od velike važnosti za istraživanja u području neuroznanosti. Osim -to je lako dostupan te finansijski isplativ, veličina -takora povećava njegovu upotrebu modela za bolesti zbog proporcionalnosti važnih organskih podstruktura, na kojima se jasno vidi djelovanje i povezanost utjecaja pojedinih lijekova na organe i anatomske strukture. Posljednjih godina -takor postaje glavni odabir za istraživanja u području toksikologije i psihologije, posebno u farmacijskoj industriji (Iannaccone i Jacob 2009).

Prilikom ovakvih istraživanja, znanstvenici najčešće koriste modele koji su uzbudljivi u kontroliranim uvjetima poput odgovaranja temperature s dovoljnom količinom svjetla te određenom satnicom mraka. Istrajevanje uzimaju vodu, kao i svu hrancu *ad libitum*. Najčešće se

podijeljenih u skupine, od kojih jedna uvijek mora biti s visokim udjelom masnoće ili na hrani bogatoj

fruktozom(Chao 2018). Radi točnosti rezultata, pogfleljeno da se tijekom istraflivanja koristi jednak broj muffjaka i flenki koji su otprikljike jednake starosti te da uvijek budu tretirani na isti način.

Istraflivanja na flivim organizmima uvijek moraju biti odobrena od strane Etičkog povjerenstva, te njima treba biti rukovano prema Hrvatskom zakonu za za-titu flivotinja (Web 2) i Pravilniku o za-titu flivotinja koje se koriste u znanstvene svrhe (Web3).

### 2.3. Glikosfingolipidi

Lipidne molekule –iroko rasprostranjene u prirodi nazivamo glikosfingolipidima (GSL). Nalazimo ih i u plazma membranama bakterija i ovjeka, a sastoje se od ugljikohidratne jedinice i aminoalkohola sfingozina vezanog na masnu kiselinu. Sfingozin je preko amino skupine vezan na masnu kiselinu te oni tako imaju bazu pod nazivom ceramid (Web 4).

Ceramid nastaje u tri koraka:

- 1) reakcija konjugacije L-serina i palmitoil-CoA koju katalizira serin-palmitoil transferaza
- 2) reakcija acilacije koju katalizira ceramid sintetaza pri čemu nastaje dehidroceramid
- 3) reakcija dehidrogenacije pri čemu nastaje ceramid (Mizutani i sur. 2008).

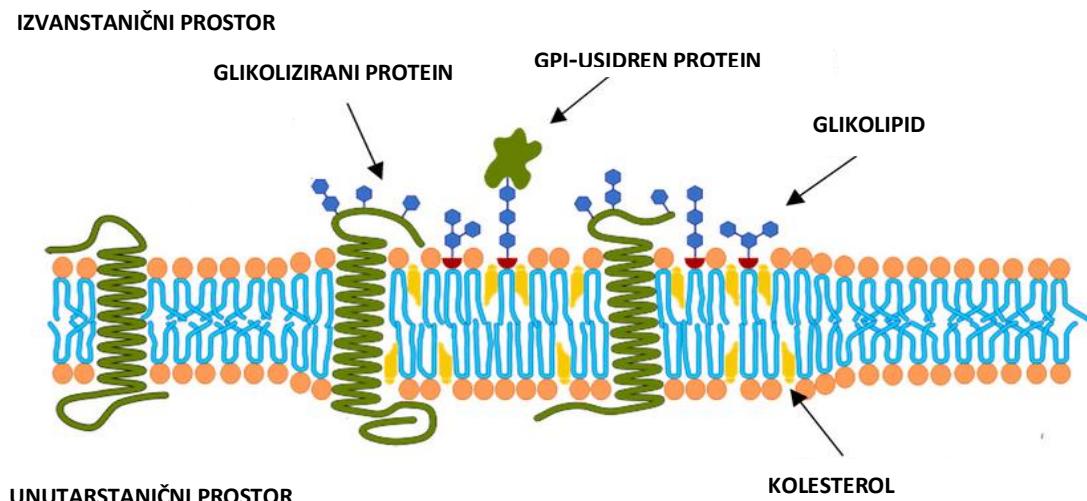
Glikosfingolipidi podklasificirani su kao neutralni (bez nabijenih –e ili ionskih skupina), sijalizirani (koji imaju jedan ili više ostataka sijalinske kiseline) ili sulfatirani. Tradicionalno, svi sijalizirani GSL-ovi poznati su kao "gangliozidi", bez obzira temelje li se na neutralnoj –e ernoj jezgri ganglio-serija (Web 5).

Glikosfingolipidi imaju više funkcija, no dvije su glavne:

- a) *trans* raspoznavanje ili interakcija između stanica
- b) *cis* regulacija ili modifikacija djelovanja proteina (Web 7).

Iako varijacije ceramida dodaju raznolikost na GSL strukture, glavne strukturne i funkcionalne klasifikacije temelje se na glikanima. Prvi su oni povezani s ceramidom u "vi-im" flivotinjama obično su galaktoze (GalCer, galaktoceramid) ili glukoza (GlcCer, glukoceramid), te su ujedno i najčešći ugljikohidratni dijelovi glikosfingolipida. GalCer i njegovi analogni sulfatidi,

te, glavni su glikani u mozgu, gdje imaju esencijalne funkcije. GlcCer je GlcCer glavni u regulaciji kofle i njene propusnosti za vodu. Ugljikohidratni dio str-*i* u ekstracelularni prostor, izvan membrane, dok ceramid, tj. lipidni dio glikosfingolipda zauzima mjesto unutar lipidnog dvosloja. Nisu nasumi no raspore eni u lipidnom dvosloju ve tvore pravilne strukture, tzv. lipidne splavi (eng. *small lateral microdomains, SML*) (Web 5; Web7) (Slika 2).



Slika 2. Lipidni splav (Preuzeto i prilagođeno s Web8)

## 2.4. Gangliozidi

Gangliozidi su podskupina glikosfingolipida koji su prisutni posvuda na membranama većine stanica organizma, iako najviše dominiraju u plivajućem sustavu (Yu i sur. 2011). Glavni su glikolipidi neuronskih plazmanskih membrana te se sastoje od glikana prirodnog načina ceramid. Ceramidi se sastoje od dugolančanog amino alkohola sfingozina, sa primarnim C2 amino-ugljikom, koji je N-acetiliran sa dugolančanim amidom masnih kiselina. Moždani gangliozični ceramidi obično imaju C1- i C2-hidroksilne grupe, te C4-C5 dvostruku vezu, sa C1-hidroksilom povezanim za glikanski lanac (Sandhoff i Harzer 2013; Rösner 2003).

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Gangnozid je otkrio 1950-in Ernst Klenk (Klenk 1937;1939), kada je analizirao postmortalno mofdano tkivo pacijenata s Tay-Sachsovom bolesti, kobni infantilni oblik amaurotskog idiotizma. Ganglozid GM2 koji sadrži jednu sijalinsku kiselinu prvi je izoliran iz mozga lrtve Tay-Sachsove bolesti u kojoj se akumulira i nazvan je "ganglozid" temeljem svog poloflaja u fliv anim skupinama ili "ganglionu" u mozgu. Isto tako, glukozilceramid (GlcCer) je najprije izoliran iz slezene pacijenta s Gaucherovim bolestom gdje se akumulira (Jalanko i Braulke 2009; Web 5).

U to vrijeme klini ka dijagnoza "amaurotskog idiotizma" obuhva ala je nasljednu bolest koja je karakterizirana velikim brojem lipidom-ispunjene stanice u fliv anom sustavu i visceralnim organima, mentalnoj retardaciji i o-te enju vida ili sljepo e. Uz pomo biokemijskih, enzimskih, molekularnih genetskih, morfolo-kih i flivotinjskih studija, klini ka slika amaurotskog idiotizma podijeljena je u posljednjih pet desetlje a u dvije glavne skupine bolesti na molekularnoj razini: lizosomalne ganglozidne skladi-ne bolesti, koje uklju uju GM1- ganglioze i 4 oblika GM2-ganglioze, te 10 oblika neuronskih lipofuscinoza ceroida do sada slabo karakteriziranih (Jalanko i Braulke 2009).

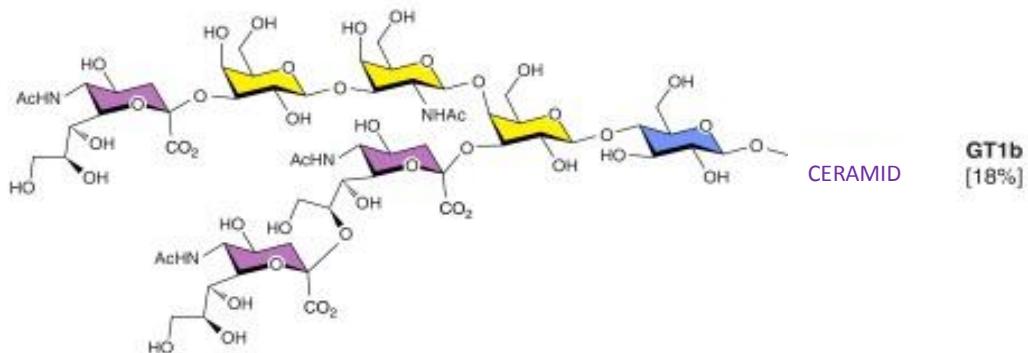
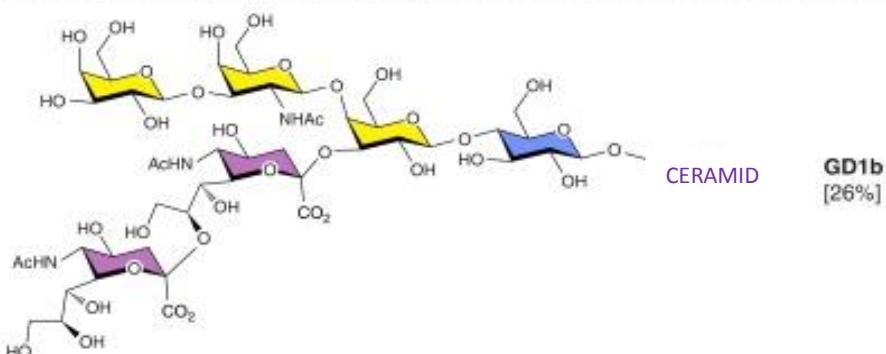
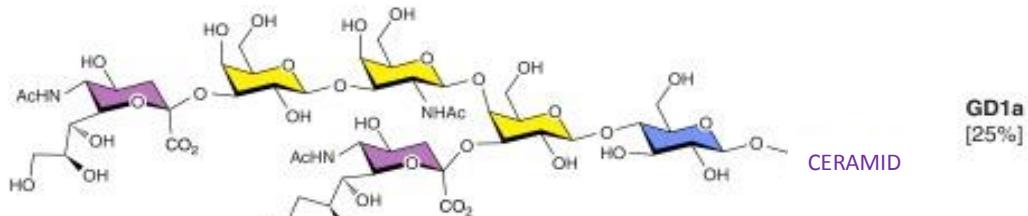
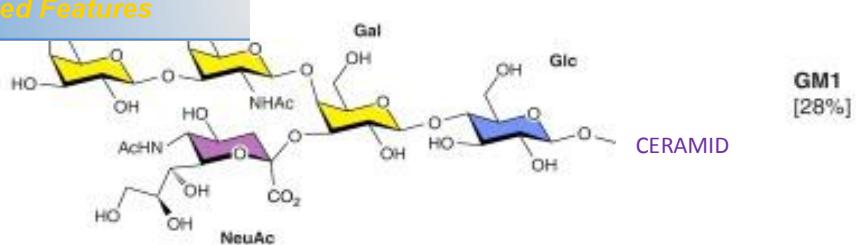
#### 2.4.2. Biosinteza i nomenklatura ganglozida

U mozgu ovjeka dominiraju samo etiri ganglozida (GM1, GD1, GD1b i GT1b) (Slika 3) koji imaju istu glikansku jezgu pri vr- enu na ceramid, ali razli it broj sijalinskih kiselina vezanih na razli itom mjestu. Iako su prisutni i drugi ganglozidi, GM1, GD1, GD1b i GT1b ine ukupno 97% mofdanih ganglozida (Tettamanti i sur. 1973). Njihova se sinteza odvija postepeno pomo u glikotransferaza koje prenose svaki monosaharid iz njegove aktivne forme (UDP-Gly-UDP-Gal, UDP-GalNAc, ili CMP-NeuAc) u rastu i glikanski lanac. Ono -to je do sada poznato, je da GM1 sudjeluje u ranoj mijelinizaciji, GD1a je marker sinaptogeneze, a GT1b je karakteristi an za zrele neurone, no cjelokupna funkcija im jo-nije definirana (Rösner 2003).

[Click Here to upgrade to](#)

**Unlimited Pages and Expanded Features**

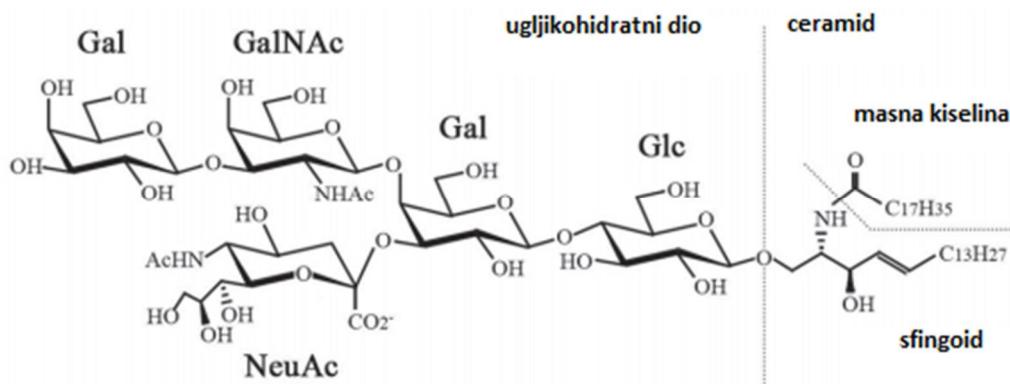
Ac



**Slika 3.** etiri glavna gangliozida u ljudskom mozgu (Preuzeto i prilago eno prema Schnaar i sur. 2014.)

lji se na njihovoj građi. Označavaju se slovima GM i  
mu šG0 označava gangliozid, a šM0 mono, tj. jednu

sijalinsku kiselinu. Umjesto slova M, može se nalaziti slovo D, T, Q, P, H ili S prijeđenu redom  
označavajući da se radi o gangliozi s dva (D), tri (T), četiri (Q), pet (P), -est (H) i sedam (S)  
sijalinskih kiselina. Brojevi označavaju broj -ova koji su vezani za ceramid, stoga oznaka  
GM1 predstavlja gangliozid s jednom sijalinskom kiselinom te četiri -ova vezana na bazu  
ceramid (Svennerholm 1963)(Slika 4).



Slika 4. Struktura GM1 (Preuzeto i prilagođeno prema Yu i sur. 2011)

Pokazalo se da GM1 smanjuje edem mozga, stabilizira neuronske stanice na membrane (Sohn i sur., 2006), smanjuje ishemisko oteženje mozga pod normoglikemijskim uvjetima,štiti neurone od neurodegeneracije, smanjuje nastalu kognitivnu disfunkciju nakon cerebralne ishemije *in vivo* i ublaflava ekscitotoksinu neuronsku smrt *in vitro* (Wu i sur., 2001). Rezultati Zhang i sur. (2010) pokazali su da primjena GM1 znatno smanjuje broj mrtvih, degenerativnih DNA fragmenata koji nastaju uslijed dijabetiške hiperglikemije. Mehanizam neuroprotektivnih učinkova GM1 nije u potpunosti razumljen. Jedan predloženi mehanizam je da prekomjerno oslobađanje glutamata u sinapsama aktivira NMDA receptor (NMDAR), koji naknadno povećava dotok kalcija u intracelularni prostor. Kalcij izaziva aktivaciju različitih lipaza, proteaza, DNaza i na kraju dovodi do stanice smrti (Runden-Pran i sur., 2005).

Do sada su gotovo isključivo opisani nasljedni nedostaci u biosintezi ganglioza koji uzrokuju kobne neurodegenerativne bolesti, poput Guillain-Barre sindroma, koji je izazvan autoimunim odgovorom na površinske stanice ganglioza ili Alzheimerovu bolest. Za tu bolest

janjem amiloid-beta peptida, te je utvrđeno brojnim studijima (Matsuzaki i sur. 2010). Neki gangliozidi sudjeluju

u patofiziologiji inzulinske rezistencije, tj. u modifikaciji djelovanja inzulinskih receptora. Radi se o gangliozidu GM3, najjednostavnijem kiselom glikosfingolipidu koji je smanjenje koncentracije u stanicama dovodi do smanjenja inzulinske rezistencije (Zhao i sur. 2007).

#### 2.4.3. Ekstrakcija gangliozida

Da bi se mogao proučiti metabolizam i transport gangliozida, potrebno je odrediti koncentraciju i sastav ovih lipida u tjelesnim tekućinama (plazmi, cerebrospinalnoj tekućini). Za ekstrakciju glikolipida iz tkiva i stanica koriste se organska otapala, najčešće otopina kloroform-metanol-voda u različitim omjerima kako bi se istaloffili i uklonili proteini i nukleinske kiseline, istovremeno povećavajući i topljivost glikosfingolipida (uz ostale lipide). Radi dobivanja točnijih rezultata potrebna je rigorozna istraživa u vidu uklanjanja radioaktivnih kontaminata, što može postati problem kad se gangliozidi moraju izolirati iz vrlo malih uzoraka. Prilikom uključivanja u odvajanje otapala, ionsku izmjenu i adsorpcijsku kromatografiju. Zbog njihove amfipatske prirode, glikolipidi su prikladni za TLC (eng. *thin layer chromatography*) analizu.

Kompletne strukturne analize glikolipida zahtijevaju kombinaciju tehniku za određivanje sastava, sekvenci, poloflaja vezanja i anomernih konfiguracija glikanskog dijela i masne kiseline, te dugolančane baze ceramidnog dijela. Sastav glikana određuje se hidrolizom i analizom oslobođenih monosaharida, a informacije o njihovoj sekvenciji, povezivanju i anomernoj konfiguraciji mogu se dobiti kombiniranjem enzimske hidrolize pomoći u specifičnosti glikozidaza s TLC. Određivanje veze najčešće se provodi analizom metilacije, a anomerne konfiguracije mogu se dobiti spektroskopijom nuklearne magnetske rezonancije (NMR). Intaktni glikani oslobađaju se iz mnogih GSL enzima kori-tenjem ceramidnih glikanaza ili endoglikoceramidaza.

Analizi glikolipidnih glikana pomoći u NMR ili MS prethodi njihovom predstavljanju kori-tenjem kromatografskih metoda. Smjese glikolipida mogu se frakcionirati pomoći u TLC, a bojanje TLC plastične reagensima koji reagiraju sa glikanom mogu omogućiti detekciju pojedinačnih glikolipida. Pomoći u različitim reagensima moguće je prepoznati gangliozide (npr. resorcinol-HCl detektira Sia) ili neutralne monosaharide (npr., orcinol-sumporna kiselina detektira sve monosaharide) u TLC vrpči. Reagensi su takođe dostupni za otkrivanje sulfatnih

bi no se za postupak pro i– avanja sirovog ekstrakta  
rafija ionske izmjene. Ti postupci razdvajaju nepolarne

ili neionske lipide iz polarnih lipida (npr. glikosfingolipide) i one koje sadrže nabijene skupine (tj. gangliozidi, fosfolipidi i sulfatidi). Glikolipidi na TLC ploama mogu se također detektirati monoklonskim protutijelima, lektinima ili ak netaknutim mikroorganizmima koji eksprimiraju receptore specifične za glikan koji prepoznaju specifične glikanske značajke. U većim količinama glikolipidi se odvajaju pomoću kolonske kromatografije ili TLC visokih performansi na silika-ploama (Web 5).

#### 2.4.4. Distribucija gangliozida u zdravom mozgu

Kotani i sur. (1993.) su tehnikom imunofluorescencije s monoklonskim antitijelima mičića proučavali distribuciju gangliozida u mozgu odraslog -takora. U radu su specifično bili prepoznati gangliozidi GM1, GD1a, GD1b, GT1b i GQ1b. GM1 je pronađen u mijelinu i gliji stanicama, GD1a eksprimiran je isključivo u molekularnom sloju, dok je GD1b nađen u granuliranom sloju i to na površini granuliranih stanica. GQ1b je takođe nađen u granuliranom sloju, ali u cerebelarnom glomerulu. GT1b je eksprimiran i u granuliranom i molekularnom sloju -to upućuje na njegovu distribuciju u svim slojevima (Kotani i sur. 1993).

Drugo istraživanje distribucije gangliozida u mozgu izvršili su Vajn i sur. (2013), ali na mičićima kao modelima. Navedeni autori su, osim mozga, ispitivali i područje mofidine i to u tri ravnine: koronalnoj, sagitalnoj i horizontalnoj ravni. Utvrđili su da je GM1 eksprimiran najviše u bijeloj tvari, iako ga se može pronaći i u nekim jezgrama mozga. Takođe se nalazi na mijeliniziranim vlaknima u niflim slojevima korteksa, na dijelu prednje komisure, no izostaje u području amigdaloidnih jezgri. Nije pronađen u piridalnim stanicama CA1 i CA2 Amonovog roga, kao ni u granularnim stanicama dentatnog girusa. Svi ostali gangliozidi su pronađeni na području dentatnog girusa, kao i u slojevima hipokampa.

GD1a i GT1b se najviše distribuiraju u svoj tvari, no mogu se naći i u bijeloj. Raspored im je sličan na rostralnim dijelovima telencefalona, sa tim da je GT1b rafirena malo više struktura u mozgu. GD1a je posebice eksprimiran u piridalnim stanicama CA3 Amonovog roga, te u olfaktornom bulbusu, dok ga u ne-to manjim količinama ima u CA1 stanicama. GD1b eksprimiran je na području dentatnog girusa kao i GT1b. GT1b je slabo izražen u glomerularnom sloju olfaktornog bulbusa te u CA3 stanicama. Na području kore mozga pronađena je izrazita ekspresija GD1a, GD1b i GT1b, i to u svim slojevima, dok područje

ozidi, od kojih je GD1a najslabije izraflen na podruju

Epitalamusu u potpunosti nedostaje ekspresija GD1a, dok podruje medijalne i lateralne habenularne jezgre izrazito pokazuju distribuciju GD1b i GT1b ganglioza. GM1 je vrlo slabo eksprimiran na ovom podruju, a hipotalamske jezgre obuhvataju distribuciju svih navedenih ganglioza, osim GD1a koji nedostaje.

Mali mozak zauzimaju svi gangliozi (GD1a, GD1b i GT1b), osim GM1 koji je pronaen samo u bijeloj tvari. Svi ostali se nalaze i u granularnom sloju, kao i u molekularnom sloju te u sloju Purkinijevih stanica.

U podruju kraljevini ke mofldine, svi gangliozi su ograni eni na neka odreena podruja, dok GD1b se nalazi u bijeloj i sivoj tvari mofldine. GM1 pronalazimo u kortikospinalnom traktu, kao i u nekim drugim bijelim tvarima koji okruuju sivu tvar. U sivoj tvari je vrlo slabo izraflen, kao i GD1a, dok GT1b nalazimo u lameli sive tvari (Web6).

Rezultati Vajn i sur. (2013) pokazali su -iroku ekspresiju GD1b i GT1b kroz mi-ji sredi-nji fliv ani sustav (CNS), dok je imunoreaktivnost na GM1 uglavnom u traktovima bijele tvari, a imunoreaktivnost GD1a kaudalno se smanjuje prema superiorni kolikulus. Posebno snafna ekspresija GD1a, GD1b i GT1b nalazimo u olfaktornom bulbusu, neokorteksu, bazalnim ganglijima, amigdali, septalnim regijama, talami kim jezgrama, hipotalamusnim jezgrama i hipokampalnom podruju.

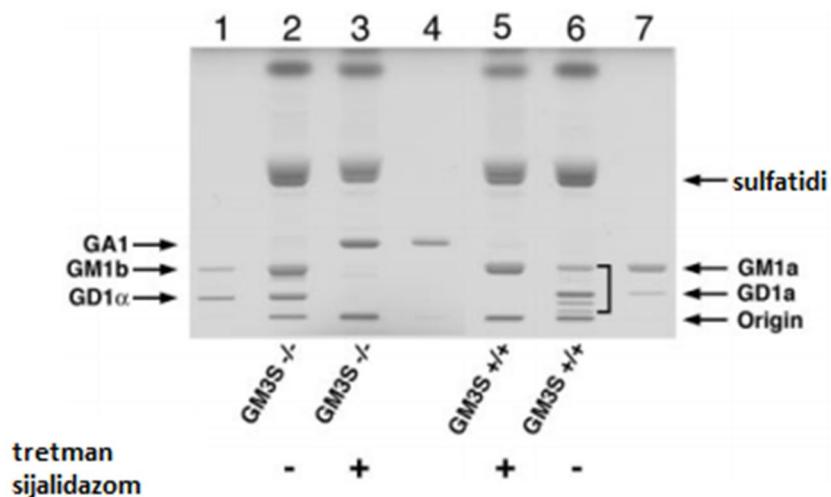
Snafna ekspresija GD1b i GT1b nalazi se u sva tri sloja cerebeluma (molekularni sloj, Purkinjeov stani ni sloj i granularni sloj stanica) i cerebelarnim jezgrama, dok je GD1a umjereno eksprimirana u cerebralnom korteksu, ali potpuno odsutan u cerebelarnim jezgrama. Rezultati takoer pokazuju da je GM1 ograni en na bijelu tvar u malom mozgu.

#### 2.4.5. Distribucija ganglioza u dijabetičnom mozgu

U istraživanju Yamashite i sur. (2013) detaljno je prouavan GM3 te je dokazano da one stanice koje eksprimiraju ovaj gangliozid prikazuju poremeće u inzulinskoj rezistenciji. Ujedno, GM3 supresira fosforilaciju inzulinskog receptora koja je stimulirana inzulinom, kao što i direktno inhibira autofosforilaciju onih receptora koji su topljivi. To sve dovodi do zaključka da ovaj gangliozid ima izravni u inak na cijelokupnu funkciju receptora (Yamashita i sur. 2003).

ku da ganglioziid GM3 izravno utje e na funkciju kojima se mjerila razina glukoze, inzulina i masno e,

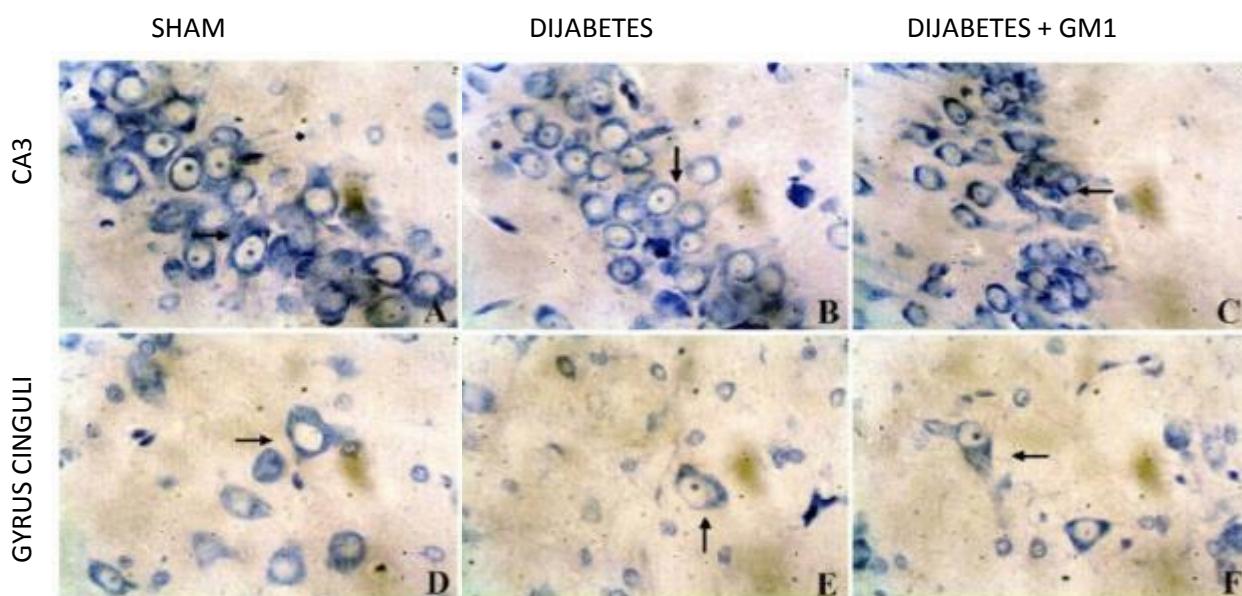
kao i hormoni. Da bi se odredila fiziolo-ka uloga ganglioziida GM3, te utje e li *in vivo* GM3 ganglioziid na signalizaciju inzulinskih receptora, koristili su mi-eve s promijenjenim genom (GM3S, tako er poznatim kao Siat9) koji kodira GM3 sintazu. Dvije generacije mi-eva su bile prou avane; GM3S<sup>-/-</sup> (eng. *GM3 synthase knockout mice*, mi-evi s promijenjenim genom koji nisu bili u mogu nosti sintetizirati ganglioziid GM3) i GM3S<sup>+/+</sup> (divlji tip). Ganglioziidi poput GM1a, GD1a, GD1b i GT1b prona eni su u GM3S<sup>+/+</sup> generaciji mi-a, dok su bili potpuno odsutni u GM3S<sup>-/-</sup> generaciji (Slika 5). U GM3S<sup>-/-</sup> generaciji vidljiva je ekspresija GM1b i GD1 ganglioziida. Znanstvenici su to povezali s aktivnosti GM3 sintetaze, jer GM1a, GD1a, GD1b i GT1b zahtijevaju aktivnost GM3 sintetaze, dok GM1b i GD1 nije potrebna navedena aktivnost. Rezultati su pokazali kako je GM3 ganglioziid negativni regulator signaliziranja inzulina, -to omogu uje novi pogled na na in regulacije inzulinskog receptora ganglioziidima. Poja ana fosforilacija inzulinskog receptora nakon vezanja liganda uzrokovala je pove anu osjetljivost na inzulin, a koncentracija mRNA GM3 sintaze iznimno se pove ala kod pretih glodavaca u odnosu na one nisu unosili hranu s visokim udjelom masno e. Mutirani mi-evi imali su pove ane odgovore na testove tolerancije na glukozu i inzulin, te je odsutnost GM3 ganglioziida pruflala za-titu od inzulinske rezistencije izazvane prehranom s visokim udjelom masti. Spoznaja da nedostatak GM3 može utjecati na inzulinsku rezistenciju pove ava mogu nost da inhibicija sinteze GM3 ganglioziida može posluftiti kao terapijski pristup dijabetesu tipa 2 koji je otporan na inzulin. (Yamashita i sur. 2003; Tagami i sur. 2002).



**Slika 5.** Prikaz ganglioziida u mozgu mi-eva generacije GM3S<sup>-/-</sup> i GM3S<sup>+/+</sup> (Preuzeto i prilago eno prema Yamashita i sur. 2003)

su utjecaj GM1 ganglioza na degenerativne DNA ke hiperglikemije. Tako su podijeljeni u grupe, od

kojih je jedna bila kontrolna (*sham*) operirana grupa (kirur-ki normalno tretirana grupa istim protokolom kao i ostale, no bez primjene terapeutskog dijela eksperimenta). Degenerirani neuroni prona eni su u hipokampalnom CA3 (Slika 6B) i cinguliranom korteksu (lat. *Gyrus cinguli*) (Slika 6E) u takora oboljelih od dijabetesa. Brojevi degenerativnih neurona u istim podru jima smanjeni su kod GM1 tretiranih takora (Slika 6C, Slika 6F), dok je broj degenerativnih neurona u cinguliranom korteksu bio ve i kod flivotinja s dijabetesom nego u normoglikemijskoj skupini. Lije enje s GM1 u dijabeti kim ishemijskim takorima zna ajno je smanjilo broj degenerativnih neurona na podru ju CA3 tijekom 1 i 3 sata i u cinguliranom korteksu u reperfuzijama od 3 do 6 sati, u usporedbi s dijabeti kim ishemijskim flivotinjama (Zhang i sur. 2010).



**Slika 6.** Prikaz degenerativnih neurona u hipokampalnom CA3 i *gyrus cinguli* tijekom 3 sata reperfuzije (Preuzeto i prilago eno prema Zhang i sur. 2010.)

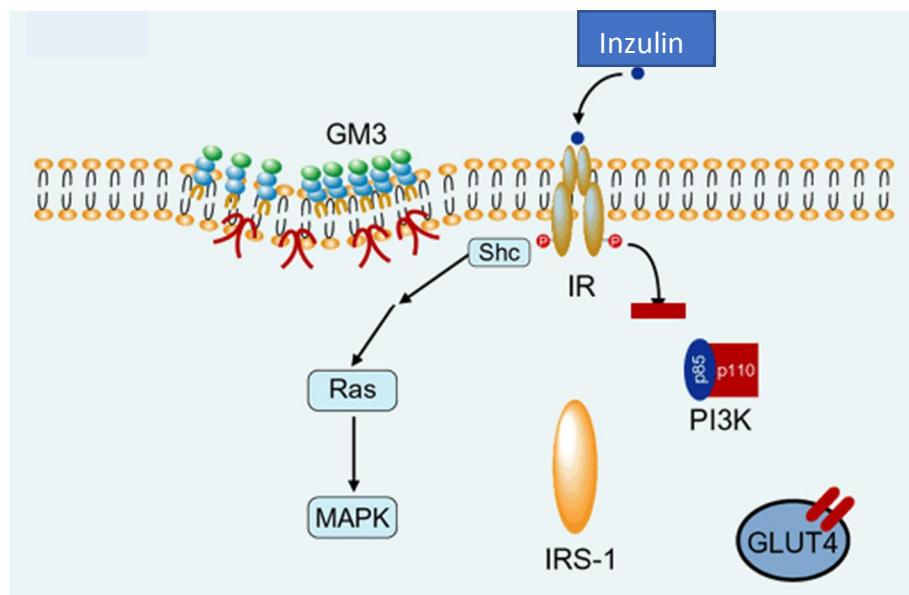
Iz navedenih istraflivanja može se zaklju iti da je razina ganglioza smanjena kod dijabeti kog mozga u usporedbi sa zdravim mozgovima; me utim, lije enje inzulinom dijabeti nih flivotinja može povratiti glikolipidne frakcije(Kumar i Menon 1993). Tako er postoje izvje-taji da je glikozilacija proteina pove ana u dijabeti kom mozgu (Kumthekar i Katyare 1992).

iju mijelinskog bazi nog proteina (Chan 1987), stoga  
ti na fosforilaciju proteina i proizvesti posljedi nu

promjenu u normalnoj strukturi i funkcijama mijelinske ovojnica. Poveane razine drugih glikolipida mogu rezultirati njihovim taloflenjem u mozgu, što dovodi do promjena u funkciji močedanog tkiva. Liječenje inzulinom kod dijabetičara nih flivotinja vratilo je glikolipidne razine u normalu, što pokazuje da dijabetes može biti odgovoran za promjene u membrani, te tako utječe na metabolizam mozga (Kumar i Menon 1993).

## 2.5. Utjecaj GM3 ganglioza na mehanizam inzulinske rezistencije

Jos uvek nisu u potpunosti poznati mehanizmi kako GM3 uzrokuje stvaranje inzulinske rezistencije, no pretpostavke su slijedeće. Moguće je da je GM3 u interakciji s fosforilacijom supstrata IRS-1 (eng. *insulin receptor substrate 1*) (Slika 7). Fosforilacija serina u IRS-1, uzrokuje inhibicijsko djelovanje IRS-1 koji će tako utjecati na smanjenje tirozin kinazne aktivnosti receptora inzulina (Hotamisligil i sur. 1994). GM3 ima sluffi kao prete za sloflenije ganglioze poput GM1a ili GD1a, te pripada gangliozidima koji se nalaze u ekstraneurallnim tkivima, a zapravo ga najviše ima u adipocitima (Prokazova i sur., 2009). GM3 može djelovati tako da inhibira fosforilaciju tirozina na IRS-1, no ako inhibiramo sintezu GM3, ne dolazi do takvog djelovanja na IRS-1, a time i na sami receptor inzulina (Hotamisligil i sur. 1994).



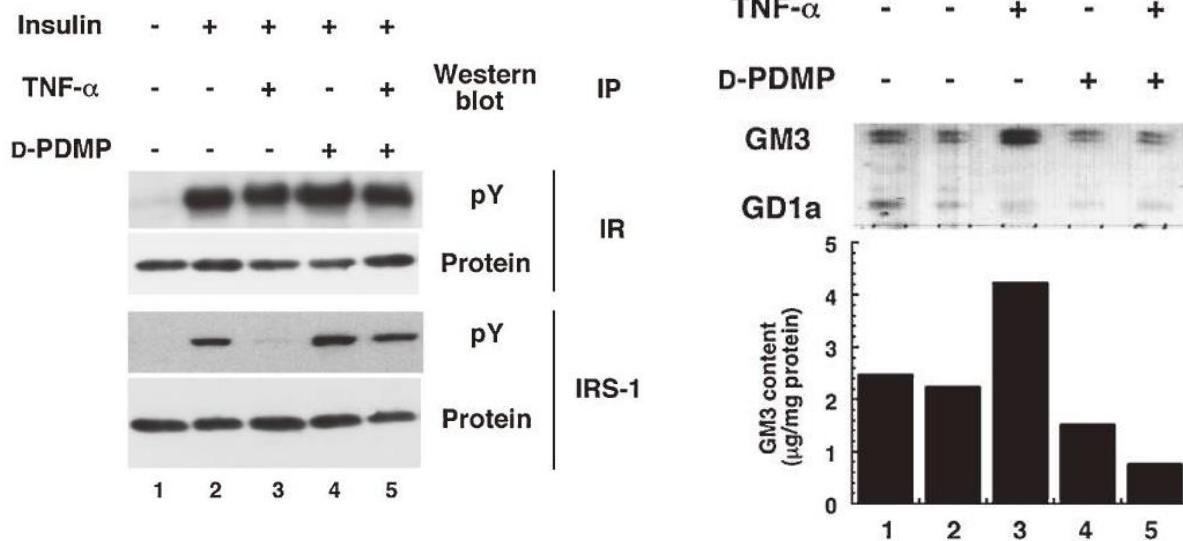
**Slika 7.** Eliminacija IRS-1 iz mikrodomene i prekid metaboličkog djelovanja inzulina u stanju inzulinske rezistencije (Preuzeto i prilagođeno prema Web 9)

receptorom (IR) aktivira unutarnju tirozinsku kinaznu i-iran IR sposoban je otpremiti i fosforilirati adaptorske

proteine, poput IR supstrata (IRS). Fosforilirani IRS aktivira PI3 kinazu (PI3K). Aktivirana PI3K translocirana je na lipidne splavi (eng. *lipid rafts*) te pretvara PIP2 (eng. *phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*) u PIP3 (eng. *phosphatidylinositol 3,4,5 trisphosphate*), nakon ega PIP3 regrutira PDK1 (eng. *phosphoinositide-dependent protein kinase 1*) da fosforilira protein kinazu B (Akt). Potpuna aktivacija Akt potrebna je za signalizaciju fosforilacijom drugog mesta pomo u mTORC2 (eng. *target of rapamycin complex 2*). Navedena IR-IRS-PI3K-Akt signalna kaskada predstavlja metaboli ki put pokrenut inzulinom i rezultira translokacijom glukoznog transportera 4 na plazma membranu kako bi se olak-ao unos glukoze (Zoncu i sur. 2011).

U radu iz 2011. godine Inokuchi je tako er potvrdio Yamashitini tvrdnju o GM3 i inzulinskoj rezistenciji iz 2003. godine. Signalna kaskada IR-IRS-PI3-kinaza (IR ó *insulin receptor* -> IRS ó *insulin receptor substrate* -> PI3 kinaza) je bitan metaboli ki put za ije je pokretanje odgovoran inzulin. Do komunikacije inzulina s TNF (eng. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ) dolazi kada se ne uzrokuje supresija IRS-1 i GLUT-4, pri tome ujedno dolazi do pove anja koncentracije GM3, kao i GM3 sintaze. TNF utje e tako da nadomje-ta sintezu GM3 i to na razini transkripcije u masnim stanicama, adipocitima. Da bi se dokazala uklju enost pove ane koncentracija GM3, i to u onim adipocitima koji su izlofleni tretmanu s TNF , s inzulinskom rezistencijom Inokuchi je koristio D-PDMP (eng. *D-threo-1-phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol*). Time se treba posti i uklanjanje glikosfingolipida. Ujedno njime je dokazan utjecaj u adipocitima na smanjenje rasta koncentracije GM3, -to na kraju upu uje da u mi-evima i -takorima nedostatak GM3 sintaze uvelike pokazuje utjecaj na pove anje signalizacije inzulina, za razliku od pove anja koncentracije GM3 sintaze koja dovodi do nedostatka i inzulinske rezistencije (Slika 8) (Inokuchi 2011).

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)



**Slika 8.** Prikaz bendova gdje TNF utječe na pojačanje ekspresije GM3, dok prevencija sinteze GM3 ukida supresiju inzulinske signalizacije (Preuzeto i prilagođeno prema Inokuchi 2011)

GM3 je prisutan i u serumu i povezan s lipoproteinima. Kod bolesnika s hiperglikemijom i hiperlipidemijom, razine GM3 su povišene, kao i kod pacijenata koji boluju od oba poremećaja istovremeno. Tako da, serumski GM3 je i te kako povezan kod bolesnika s dijabetesom tipa 2 i izuzetno velikom pretilosti. Veća koncentracija LDL-a povezana je s povećanjem GM3. Stoga osim mjerjenja kolичine i proučavanja distribucije GM3 u mozgu, potrebno je i istraživanje njegove koncentracije u drugim organima poput mišića i masnog tkiva (konkretno u adipocitima), kao i u serumu, jer se raznim istraživanjima dokazala njegova korisnost kao markera za rane dijagnoze bolesti poput poremećaja inzulinske rezistencije i ateroskleroze (Inokuchi 2011).

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Lo-a prehrana te neaktivan stil života sve vi-e dovode do pojave dijabetesa, koji je jedan od najčešćih uzročnika smrti u 21. stoljeću. Kombinacija inzulinske rezistencije te disfunkcije beta-stanicama Lagerhansovih otočaka dovode do hiperglikemije, a zatim do dijabetesa tipa 2 od kojeg boluje najveći broj oboljelih, zbog čega se konstantno radi na novim tretmanima liječenja. Prilikom pokusa najviše se koriste metformin i Sprague-Dawley soja, i va prehrana s visokim udjelom masti/fruktozom u kratkom vremenskom roku rezultira povećanim postotkom glukoze i inzulina u krvi (Runtuwene i sur. 2016).

Brojna istraživanja spomenuta u tekstu upućuju najviše na GM3 ganglioizid i kako je njegova sinteza direktno uključena u dijabetes, kao i na to da GM3 predstavlja ključni dio koji dovodi do razvoja inzulinske rezistencije. Inhibicija sinteze GM3 može doprinijeti velikim promjenama prilikom ovakvih metabolitskih poremećaja. U nekim slučajevima, primjerice pri poboljšavanju inzulinske rezistencije, nije potrebno ukidanje sinteze GM3 u potpunosti, već samo normalizacija koncentracije navedenog ganglioizida. To dovodi do normalne signalizacije inzulina, zahvaljujući D-PDMP-u koji utječe na TNF-α. Također, spoznaja gdje se ganglioizidi GD1a i GT1b najviše eksprimiraju u zdravom mozgu, može pomoći pri usporedbi s ekspresijom u diabetičnom mozgu te time i pri izradi tretmana za liječenje osoba oboljelih od dijabetesa tipa 2. Naravno, ne samo njihova ekspresija, već i distribucija ostalih poznatih ganglioizida, može doprinijeti velikom napretku u liječenju protiv ove kronične i degenerativne bolesti.

[Click Here to upgrade to  
Unlimited Pages and Expanded Features](#)

Bellush, L. L., Reid, S. G. (1991) Altered behavior and neurochemistry during short-term insulin withdrawal in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 40: 217-222.

Chan, K. F. (1987) Ganglioside-modulated protein phosphorylation in myelin. *Journal of Biological Chemistry* 262: 2415-2422.

Chao, P. C., Li, Y., Chang, C. H., Shieh, J. P., Cheng, J. T., Cheng, K. C. (2018) Investigation of insulin resistance in the popularly used four rat models of type-2 diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 101: 155-161.

Damjanov, I., Seiwerth, S., Juki , S., Nola, M. (2014) *Bolesti gu-tera e. U: Rai , A. (ur.) Patologija*. Medicinska naklada, Zagreb, str. 516-522.

Hotamisligil, G. S., Murray, D. L., Choy, L. N., Spiegelman, B. M. (1994) Tumor necrosis factor alpha inhibits signaling from the insulin receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 91: 4854-4858.

Iannaccone, P. M., Jacob, H. J. (2009) Rats!. *Disease Models & Mechanisms* 2: 206-210.

Inokuchi, K. (2011) Adult neurogenesis and modulation of neural circuit function. *Current opinion in neurobiology* 21: 360-364.

Jalanko, A., Bräulke, T. (2009) Neuronal ceroid lipofuscinoses. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research* 1793 697-709.

Klenk, E. (1937) Die Fettstoffe des Gehirns bei Amaurotischer Idiotie und Niemann-Pick'scher Krankheit. *Ber. Ges. Physiol* 96: 659-660.

Klenk, E. (1939) Niemann-Pick'sche Krankheit und Amaurotische Idiotie. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 262:1286143.

Koki , S. (2009) Dijagnostika i lije enje –e erne bolesti tipa 2. Medix: specijalizirani medicinski dvomjesečnik 15: 90-98.

Koki , S. (2013) Patofiziologija –e erne bolesti tipa 2. U: Ti inovi Kurir, T. (ur.) *Patofiziologija endokrinopatija - odabrana poglavlja*. Redak, Split, str. 61-73.

Sphingolipidsô their metabolic pathways and the  
diseases. Angewandte Chemie International Edition

38: 1532-1568.

Kotani, M., Kawashima, I., Ozawa, H., Terashima, T., Tai, T. (1993) Differential distribution of major gangliosides in rat central nervous system detected by specific monoclonal antibodies. Glycobiology 3: 137-146.

Kumar, J. S., Menon, V. P. (1993) Effect of diabetes on levels of lipid peroxides and glycolipids in rat brain. Metabolism-Clinical and Experimental 42: 1435-1439.

Kumthekar, M. M., Katyare, S. S. (1992) Altered kinetic attributes of Na (+)+ K (+)-ATPase activity in kidney, brain and erythrocyte membranes in alloxan-diabetic rats. Indian journal of experimental biology 30: 26-32.

Krukoff, T. L., Patel, K. P. (1990) Alterations in brain hexokinase activity associated with streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat. Brain Res 522:157-160.

Mans, A. M., DeJoseph, M. R., Davis, D. W., Hawkins, R. A. (1988) Brain energy metabolism in streptozotocin-diabetes. Biochemical journal 249: 57-62.

Matsuzaki, K., Kato, K., Yanagisawa, K. (2010) A polymerization through interaction with membrane gangliosides. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids 1801: 868-877.

Mayyas, F., Jaradat, R., Alzoubi, K. H. (2018) Cardiac effects of fish oil in a rat model of streptozotocin-induced diabetes. Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases 28: 592-599.

Mizutani, Y., Kihara, A., Chiba, H., Tojo, H., Igarashi, Y. (2008) 2-Hydroxy-ceramide synthesis by ceramide synthase family: enzymatic basis for the preference of FA chain length. Journal of lipid research 49: 2356-2364.

Montanya, E., Sesti, G. (2009) A review of efficacy and safety data regarding the use of liraglutide, a once-daily human glucagon-like peptide 1 analogue, in the treatment of type 2 diabetes mellitus. Clinical therapeutics 31: 2472-2488.

Mooradian, A. D., Morin, A. M. (1991) Brain uptake of glucose in diabetes mellitus: the role of glucose transporters. The American journal of the medical sciences 301: 173-177.

1991) A specific type of ganglioside as a modulator of receptor tyrosine kinase activity. Possible association

of ganglioside-induced inhibition of insulin receptor function and monocytic differentiation induction in HL-60 cells. *Journal of Biological Chemistry* 266: 4531-4537.

Novak, B., Metelko, fi. (2011) Liraglutid u lije enju –e erne bolesti tipa 2. *Lije ni ki vjesnik* 133: 269-276.

Phillips, M. S., Liu, Q., Hammond, H. A., Dugan, V., Hey, P. J., Caskey, C. T., Hess, J. F. (1996) Leptin receptor missense mutation in the fatty Zucker rat. *Nature genetics* 13: 18-19.

Pokorski, M., Po dzik, M., Mazzatenta, A. (2018) Antioxidant treatment for impaired hypoxic ventilatory responses in experimental diabetes in the rat. *Respiratory physiology & neurobiology* 255: 30-38.

Prokazova, N. V., Samovilova, N. N., Gracheva, E. V., Golovanova, N. K. (2009) Ganglioside GM3 and its biological functions. *Biochemistry (Moscow)* 74: 235-249.

Reed, M. J., Meszaros, K., Entes, L. J., Claypool, M. D., Pinkett, J. G., Gadbois, T. M., Reaven, G. M. (2000) A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism-Clinical and Experimental* 49: 1390-1394.

Romano, S., Mitro, N., Diviccaro, S., Spezzano, R., Audano, M., Garcia-Segura, L. M., Caruso, D., Melcangi, R. C. (2017) Short-term effects of diabetes on neurosteroidogenesis in the rat hippocampus. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 167: 135-143.

Rösen, P., Wiernsperger, N. F. (2006) Metformin delays the manifestation of diabetes and vascular dysfunction in GotoóKakizaki rats by reduction of mitochondrial oxidative stress. *Diabetes/metabolism research and reviews* 22: 323-330.

Rösner, H. (2003) Developmental expression and possible roles of gangliosides in brain development. U: Kostovic, I. (ur.) *Guidance Cues in the Developing Brain*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, str. 49-73.

Runden-Pran, E., Tansø, R., Haug, F. M., Ottersen, O. P., Ring, A. (2005) Neuroprotective effects of inhibiting N-methyl-D-aspartate receptors, P2X receptors and the mitogen-activated protein kinase cascade: a quantitative analysis in organotypical hippocampal slice cultures subjected to oxygen and glucose deprivation. *Neuroscience* 136: 795-810.

Iwa, A., Amitani, H., Amitani, M., Morinaga, A., A. (2016) Rosmarinic acid ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity in diabetic rats, potentially by modulating the expression of PEPCK and GLUT4. *Drug design, development and therapy* 10: 219362202.

Sandhoff, K., Harzer, K. (2013) Gangliosides and gangliosidoses: principles of molecular and metabolic pathogenesis. *Journal of Neuroscience* 33: 10195-10208.

Schnaar, R. L., Gerardy-Schahn, R., Hildebrandt, H. (2014) Sialic acids in the brain: gangliosides and polysialic acid in nervous system development, stability, disease, and regeneration. *Physiological Reviews* 94: 461-518.

Shaw, R. J. (2013) Metformin trims fats to restore insulin sensitivity. *Nature medicine* 19: 1570-1572.

Shi, Y., Hu, F. B. (2014) The global implications of diabetes and cancer. *The lancet* 383: 1947-1948.

Sohn, H., Kim, Y. S., Kim, H. T., Kim, C. H., Cho, E. W., Kang, H. Y., Kim, N.S., Kim, C.H., Ryu, S.E., Lee, J.H, Ko, J. H. (2006) Ganglioside GM3 is involved in neuronal cell death. *The FASEB journal* 20: 1248-1250.

Srinivasan, K., Ramarao, P. (2007) Animal model in type 2 diabetes research: An overview. *Indian Journal of Medical Research* 125: 451-472.

Svennerholm, L. (1963) Chromatographic separation of human brain gangliosides. *Journal of neurochemistry* 10: 613-623.

Tagami, S., Inokuchi, J. I., Kabayama, K., Yoshimura, H., Kitamura, F., Uemura, S., Ogawa, C., Ishii, A., Saito, M., Ohtsuka, Y., Sakaue, S., Igarashi, Y. (2002) Ganglioside GM3 participates in the pathological conditions of insulin resistance. *Journal of Biological Chemistry* 277: 3085-3092.

Tateishi, K., He, J., Taranova, O., Liang, G., D'Alessio, A. C., Zhang, Y. (2008) Generation of insulin-secreting islet-like clusters from human skin fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry* 283: 31601-31607.

Tettamanti, G., Bonali, F., Marchesini, S. T., Zambotti, V. (1973) A new procedure for the extraction, purification and fractionation of brain gangliosides. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)/Lipids and Lipid Metabolism* 296: 160-170.

onin, M. T., Mazur, M., Telser, J. (2007) Free radicals  
ical functions and human disease. The international  
journal of biochemistry & cell biology. 39: 44-84.

Wu, G., Xie, X., Lu, Z. H., Ledeen, R. W. (2001) Cerebellar neurons lacking complex gangliosides degenerate in the presence of depolarizing levels of potassium. Proceedings of the National Academy of Sciences 98: 307-312.

Yamashita, T., Hashiramoto, A., Haluzik, M., Mizukami, H., Beck, S., Norton, A., Kono, M., Tsuji, S., Daniotti, J. L., Werth, N., Sandhoff, K., Sandhoff, R., Proia, R. L. (2003) Enhanced insulin sensitivity in mice lacking ganglioside GM3. Proceedings of the National Academy of Sciences 100: 3445-3449.

Yu, R.K., Tsai, Y. T., Ariga, T., Yanagisawa, M. (2011) Structures, biosynthesis, and functions of gangliosides-an overview. Journal of oleo science 60: 537-544.

Zhang, J. Z., Jing, L., Ma, Y., Guo, F. Y., Chang, Y., Li, P. A. (2010) Monosialotetrahexosyl ganglioside attenuates diabetes-enhanced brain damage after transient forebrain ischemia and suppresses phosphorylation of ERK1/2 in the rat brain. Brain research 1344: 200-208.

Zhao, H., Przybylska, M., Wu, I. H., Zhang, J., Siegel, C., Komarnitsky, S., Yew, N.S., Cheng, S. H. (2007) Inhibiting glycosphingolipid synthesis improves glycemic control and insulin sensitivity in animal models of type 2 diabetes. Diabetes 56: 1210-1218.

Zja i -Rotkvi , V. (2009) Oralni hipoglikemizantni lijekovi u lije enju –e erne bolesti. Medix: specijalizirani medicinski dvomjese nik 15: 107-113.

Zoncu, R., Efeyan, A., Sabatini, D. M. (2011) mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing. Nature reviews Molecular cell biology 12: 21-35.

#### WEB IZVORI:

Web1. World Health Organization: Global report on diabetes.  
[http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204871/9789241565257\\_eng.pdf?sequence=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204871/9789241565257_eng.pdf?sequence=1)  
(10.8.2017.)

Web2. Narodne novine: Zakon o za-titi flivotinja. [https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017\\_10\\_102\\_2342.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2017_10_102_2342.html) (7.9.2017.)

za-titi flivotinja koje se koriste u znanstvene svrhe.  
beni/2013\_05\_55\_1129.html (7.9.2017.)

Web4. Cold Spring Harbor perspectives in biology 3: Glycosphingolipid functions.

<http://cshperspectives.cshlp.org/content/3/7/a004788.long> (16.7.2017.)

Web5. The National Center for Biotechnology Information: Essentials of Glycobiology, 3rd edition. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK310274/> (14.6.2018.)

Web6. Vajn, K., Viljeti , B., Degme i , I. V., Schnaar, R. L., Heffer, M. : Differential Distribution of Major Brain Gangliosides in the Adult Mouse Central Nervous System. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0075720> (19.7.2017.)

Web7. The National Center for Biotechnology Information: Essentials of Glycobiology, 2nd edition. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1909/> (14.6.2018.)

Web8. Research Gate: Lateral organization of the transmembrane domain and cytoplasmic tail of influenza virus hemagglutinin revealed by time resolved imaging. [https://www.researchgate.net/publication/279828978\\_Lateral\\_organization\\_of\\_the\\_transmembrane\\_domain\\_and\\_cytoplasmic\\_tail\\_of\\_influenza\\_virus\\_hemagglutinin\\_revealed\\_by\\_time\\_resolved\\_imaging](https://www.researchgate.net/publication/279828978_Lateral_organization_of_the_transmembrane_domain_and_cytoplasmic_tail_of_influenza_virus_hemagglutinin_revealed_by_time_resolved_imaging) (20.6.2018)

Web9. Glyco Forum: Type2 Diabetes and Ganglioside GM3.

<http://glycoforum.gr.jp/science/word/glycopathology/GD-B03E.html> (2.7.2018.)