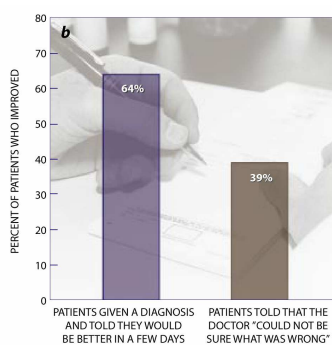


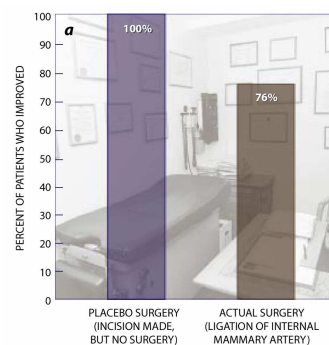
## Glikobiologija i stres

Može li naša psiha utjecati na konkretne biokemijske procese u tijelu?

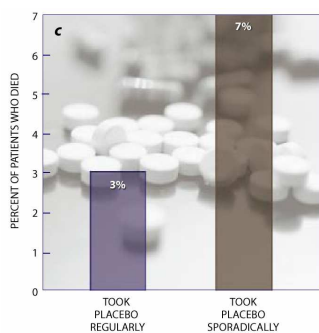
### Pacijentovo očekivanje značajno utječe na tijek bolesti



### Placebo operacije mogu značajno pomoći kod angine pectoris



Nedavna studija na 2000 pacijenata pokazala je da je smrtnost onih koji su nakon infarkta regularno uzimali propranolol, upola manja od smrtnosti onih koji su propranolol uzimali neredovito. Kod pacijenata koji su umjesto propranolola uzimali placebo učinak je bio istovjetan.



# STRESS ?



... ljude ne uznemiruju činjenice, već njihovo poimanje tih činjenica ...

**Epiktet**



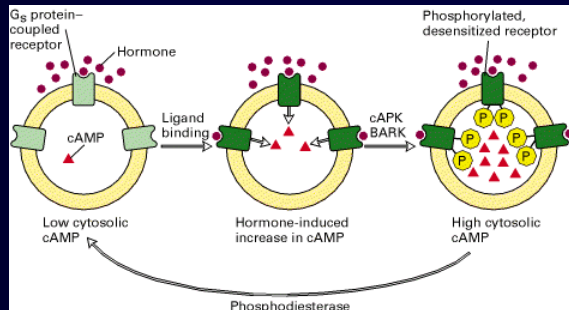
**STRES**

*najopasnija opasnost za zapadnog svijeta*

- traumatski događaji (ratovi, prirodne katastrofe, prometne nezgode, silovanja, pljačke ili nenadana smrt voljene osobe)
- stres na radnom mjestu
- stres u prometu
- stres u obitelji



## Prijenos signala u stresu reguliran je mehanizmom negativne povratne sprege



## Čarobni napitak protiv stresa NE POSTOJI



## Liječenje stresa vrlo je profitabilno

**ANTI-STRESS KIT**

**BANG HEAD HERE**

**Instructions**

1. Place on firm surface.
2. Follow directions provided in circle.
3. Repeat until you are end-stressed or become unconscious.

**Diploma**  
Hypnotherapy & Stress Control  
Grant Edmonds  
Ph.D. in Psychology  
Hypnotherapy & Stress Control  
Grant Edmonds  
Ph.D. in Psychology

**Artemetherapy Diploma**  
Artemetherapy & Stress Control  
Artemetherapy & Stress Control  
Artemetherapy & Stress Control



## Prekomjerni stres ima brojne negativne posljedice

- infektivne bolesti (Cohen 1991)
- gastrički ulcer (Das i Banerjee 1993)
- kardiovaskularne bolesti (Malyszko 1994)
- tumori (Chen 1995, Geyer 1996)
- atrofija hipokampusa (Stein 1997)

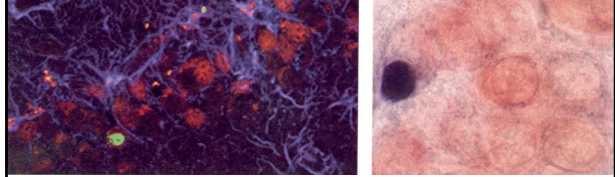
## Učinci stresa na reprodukciju i rast

- višestruka inhibicija reproduktivne osovine
  - profesionalni atletičari, plesači baleta
- inhibicija rasta
  - supresija hormona rasta
  - inhibicija učinaka faktora rasta sličnog inzulinu-1 (insulin-like growth factor-1)
  - psihosocijalna patuljatost (psychosocial dwarfism)
    - nizak rast i zakašnjeni pubertet u zapostavljene ili maltretirane djece
    - postoji i kod nekih životinja

## Učinci stresa na imuni sustav

- mozak i imuni sustav međusobno komuniciraju i putem izravne inervacije i putem kemijskih glasnika
  - limfoidni organi imaju gustu simpatičku inervaciju
  - na stanicama imunog sustava postoje receptori za kortikosteroide i CRH (hormon za otpuštanje kortikotropina)
  - upalni citokini (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6) aktiviraju HPA osovinu i pojedinačno i u sinergiji (Stratakis 1995)
- stresni hormoni snažno suprimiraju imuni sustav
  - snižena aktivnost stanica prirodnih ubojica (NK stanice) i proizvodnja specifičnih protutijela
- snižena aktivnost HPA osovine u kroničnom stresu povezana je s pojavom autoimunih protutijela (de Bellis 1996)

Stress smanjuje broj novih neurona koji nastaju u hipokampusu odraslog čovjeka

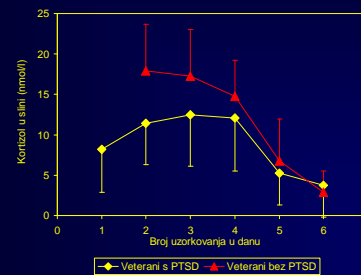


Pretpostavlja se da je smanjena neurogeneza jedan od mogućih mehanizama nastanka "burnout sindroma"

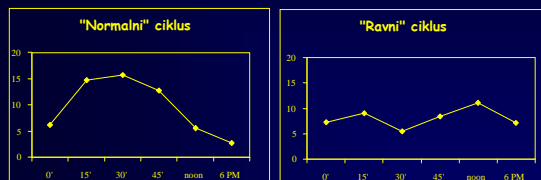
## Tradicionalna podjela odgovora na stres

- središnji živčani sustav (CNS)
- simpato-adrenomedularni sustav
  - izravna inervacija ciljnih organa
  - kateholamini (adrenalin, noradrenalin)
  - neuropeptidi Y, somatostatin, enkefalin, neurotensin, ATP I NO
- osovina hipotalamus - hipofiza - nadbubrežna žlijezda (Hypothalamus Pituitary Adrenal - HPA)
  - CRH → ACTH → kortikosteroidi

Kronični stres povezan je sa sniženim razinama kortizola



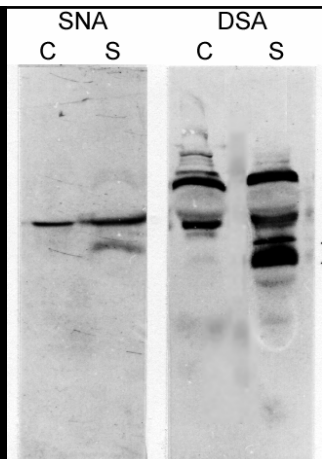
Kortizol kod većine ljudi ima pravilan cirkadijalni ritam



Cirkadijalni ciklus kortizola osjetljiv je na stress

	Regularni ciklus kortizola	"Ravni" ciklus kortizola
Veterani bez PTSD	15 (94%)	1 (6%)
Nehospitalizirani veterani s PTSD	10 (71%)	4 (29%)
Hospitalizirani veterani s PTSD	7 (58%)	5 (42%)

Stres je povezan sa specifičnim promjenama u serumskim glikoproteinima čovjeka

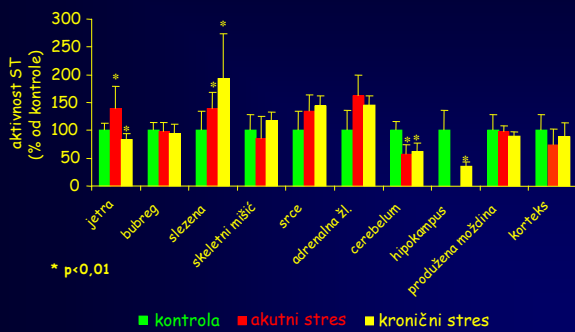


## Kortikosteroidi mijenjaju aktivnost sialiltransferaza (Breen *et al.*, 1994-1998)

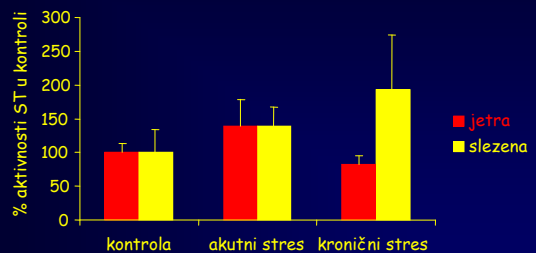
- sialiltransferaze u mozgu su pod pozitivnom kontrolom kortikosteroida
  - adrenaletomija snižava aktivnost ST
  - deksametazon i aldosteron imaju različite učinke na različite regije u mozgu
- ST u jetri su pod negativnom kontrolom nadbubrežne žlijezde, ali ne kortikosteroidima
- ST u bubregu nisu pod utjecajem kortikosteroida ili nadbubrežne žlijezde

Sialiltransferaze u različitim tkivima ili različitim regijama mozga reagiraju različito na iste hormonalne signale.

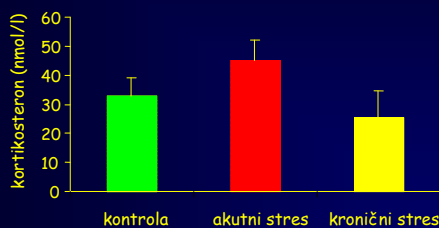
## Promjene aktivnosti sialiltransferaza pod djelovanjem stresa tkivno su specifične



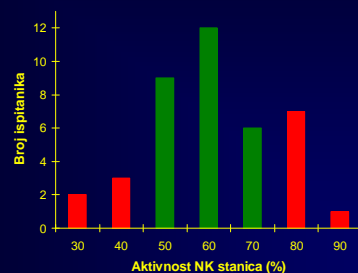
## Stres utječe na aktivnost sialiltransferaza u tkivima štakora



## Akutni i kronični stres utječu na koncentraciju kortikosterona u serumu



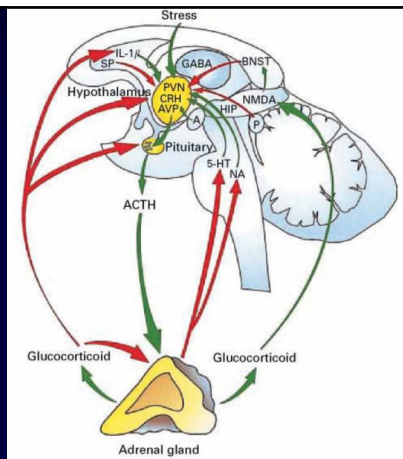
## Može li uspjeh poništiti negativne učinke stresa na imuni sustav?



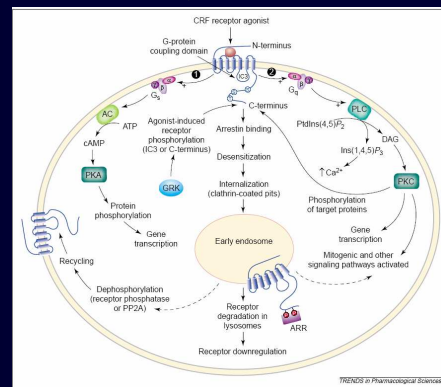
Lauc *et al.* (1998) *Ann N.Y. Acad. Sci.* 851:526.



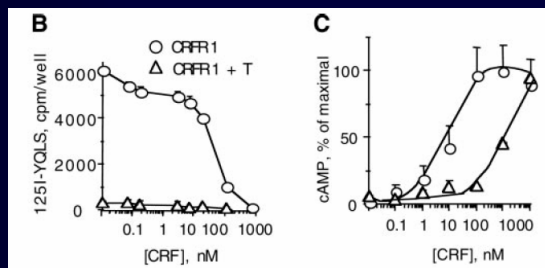
## HPA osovina



## Pojačano signaliziranje CRF-a brzo se utišava snižavanjem aktivnosti receptora

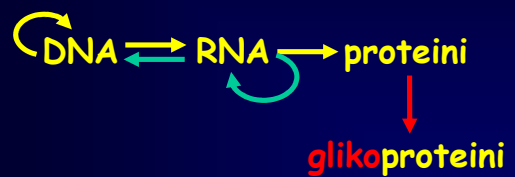


## Glikozilacija je nužna za normalnu aktivnost CRFR1 receptora

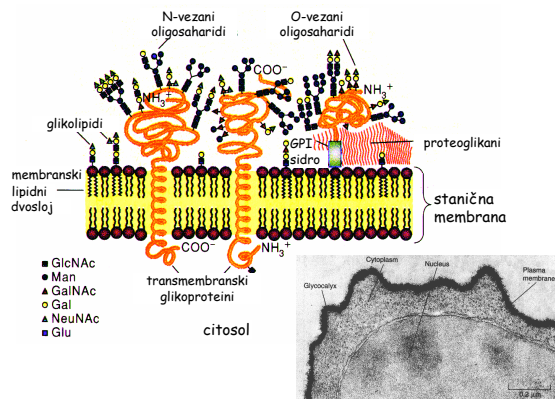


Am J Physiol Endocrinol Metab 281: E1015-E1021, 2001.

## Struktura glikokonjugata nije zapisana u genima, te predstavlja oblik stanične "memorije"

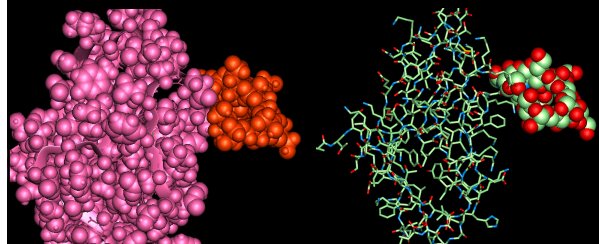


## Stanične membrane prekrivene su glikokonjugatima



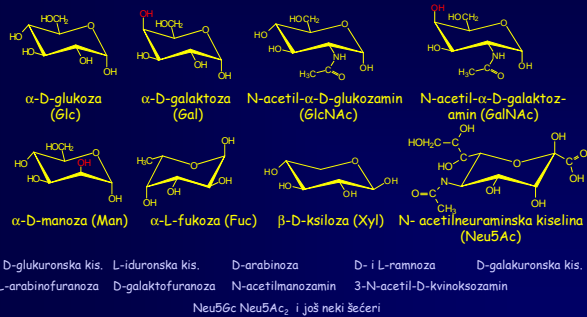
## Na razini atoma ugljikohidratni i proteinski dio glikoproteina se ne razlikuju

Svaka oligosaharidna struktura ima svoju vlastitu funkciju



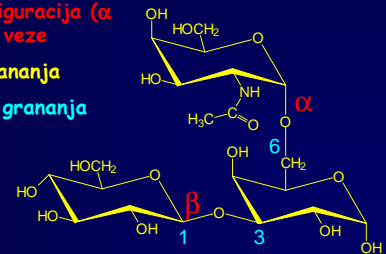
13.6 kDa adhezijska domena CD2 na humanim T limfocitima

## Repertoar monosaharida prisutnih u glikokonjugatima je ograničen

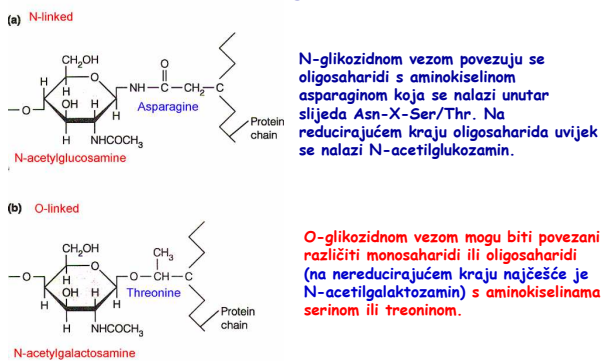


## Izvori raznolikosti oligosaharidnih struktura

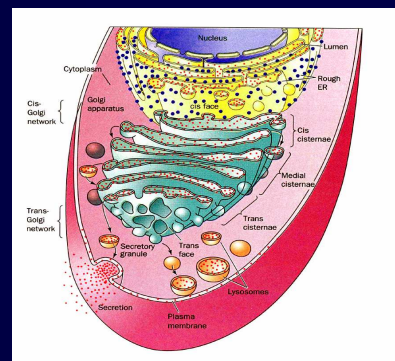
1. Slijed monosaharida
2. Položaj glikozidne veze
3. Anomerna konfiguracija ( $\alpha$  ili  $\beta$ ) glikozidne veze
4. Broj mjesta grananja
5. Položaj mjesta grananja



## Oligosaharidi na proteine mogu biti vezani O- ili N-glikozidnom vezom



## BIOŠINTEZA N-GLIKOZILIRANIH PROTEINA ZAPOČINJE U ENDOPLAZMATSKOM RETIKULUMU



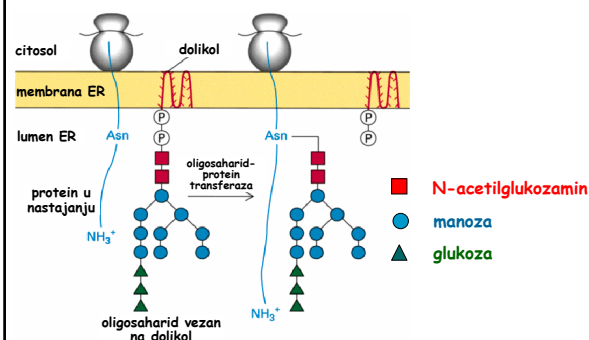
U ER oligosaharidi se vežu na lipidni nosač te se prenose na protein u nastajanju.

Procesiranje glikana odvija se u Golgijevom aparatu.

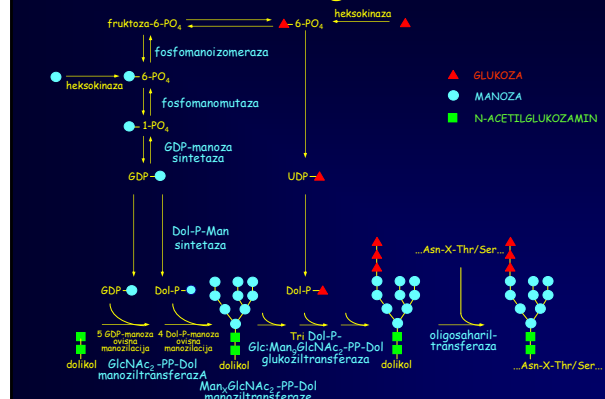
Glikozilirani produkti se pakiraju i prenose do konačnog odredišta.

## Zajednička preteča svih N-vezanih oligosaharida je $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$

- nastaje na lipidnom nosaču u dolikol-PP, najprije u citosolu a zatim na luminalnoj strani ER



## Biosinteza N-glikana u ER



[illegible]

# Biosinteza N-glikana u GA

**Biosinteza N-glikana u GA**

**OLIGOMANOZNI**

**HIBRIDNI**

**KOMPLEKSNI**

**Legend:**

- ▲ GLUKOZA
- MANOZA
- ▲ FUKOZA
- N-ACETILGLUKOZAMIN

**Enzymes and Donors:**

- GlcNAc-T I
- $\alpha$ -mannosidaze II
- GlcNAc-T II
- GlcNAc-T I, II, III, IV, V, VI
- Fuc T
- UDP-GlcNAc (DONOR)
- GDP-Fucose (DONOR)

**Pathway Details:**

- OLIGOMANOZNI:** Starts with a pre-formed oligosaccharide on Asn. The pathway leads to a complex N-glycan.
- HIBRIDNI:** Starts with a pre-formed oligosaccharide on Asn. The pathway involves the addition of GlcNAc-T I and  $\alpha$ -mannosidaze II, leading to a complex N-glycan.
- KOMPLEKSNI:** Starts with a pre-formed oligosaccharide on Asn. The pathway involves the addition of GlcNAc-T II, leading to a complex N-glycan.

**N-Glycoside Processing**

$Z = \text{[GlcNAc]}_n \text{ [Le}^X\text{]} \text{ [SLe}^X\text{]} \text{ [Le}^Y\text{]}$

Legend:

- Glc
- Man
- Gal
- GlcNAc
- ◆ SA
- ▲ Fuc

Diagram illustrating the biosynthesis of oligosaccharidic structures:

The process starts with a core structure (R) and proceeds through various enzymatic steps (OG, DMJ, TI, GMII, THII, TIV, TV) to form complex oligosaccharides. The final structure (Z) is composed of repeating units of GlcNAc, Le<sup>X</sup>, SLe<sup>X</sup>, and Le<sup>Y</sup>.

U proces biosinteze oligosaharidnih struktura uključen je velik broj (>300) glikozidaza i glikoziltransferaza koje specifično kataliziraju pojedine korake.

## Ogranci visoko-manoznog tipa oligosaharida sadrže samo manozu

heptasaharidna jezgra

Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  2 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  3 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  6 Man  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\rightarrow$  Asn

Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  2 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  3 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  6 Man  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\rightarrow$  Asn

Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  2 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  2 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  3 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  6 Man  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\rightarrow$  Asn

- biosinteza glikoproteina visoko-manoznog tipa završava u ER-u
- nalazimo ih većinom kod nižih eukariota
- prepoznaje ih specifični lektin MBL (mannose binding lectin)

Kod glikoproteina složenog tipa krajnji ogranci manoze zamjenjeni su drugim monosaharidima

Diagram illustrating the structure of a branched oligosaccharide (složenog tipa) where terminal mannose residues are replaced by other monosaccharides. The structure shows a central trimannoside core (trimanozna jezgra) with various branches including GlcNAc, Fucose (Fuc), and Asparagine (Asn).

Key components and linkages shown:

- Core structure:  $\text{GlcNAc} \beta 1 \rightarrow 4 \text{Man} \alpha 1 \rightarrow 6 \text{GlcNAc} \beta 1 \rightarrow 4 \text{GlcNAc}$
- Branches:
  - $\text{Fuc} \alpha 1$  attached to the terminal GlcNAc.
  - $\text{GlcNAc} \beta 1 \rightarrow 4 \text{Man} \beta 1 \rightarrow 4 \text{GlcNAc} \beta 1 \rightarrow 4 \text{GlcNAc} \rightarrow \text{Asn}$
  - $\text{GlcNAc} \beta 1 \rightarrow 4 \text{Man} \alpha 1 \rightarrow 3 \text{GlcNAc} \beta 1 \rightarrow 4 \text{GlcNAc}$

The diagram highlights the **trimanozna jezgra** (trimannoside core) and the  **$\alpha$ -manozidaza I** (N-glycosylase I) enzyme, which is responsible for the removal of the first four mannose residues.

Oligosaharidi hibridnog tipa imaju dio strukture kao visoko-manozni, a dio kao složeni oligosaharidi

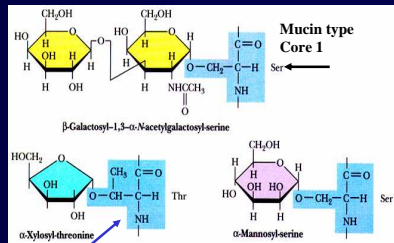
Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  2 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  3 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  6 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 Man  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\rightarrow$  Asn

Gal  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  3 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  6 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\rightarrow$  Asn

Sia  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  3 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  6 Man  $\alpha$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\beta$ 1  $\rightarrow$  4 GlcNAc  $\rightarrow$  Asn



## O-VEZANI ŠEĆERI "Varietas delectat"

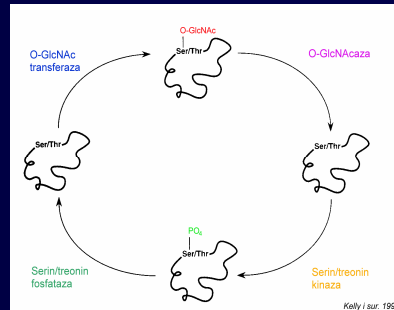


Glikani mucinskog tipa kod viših eukariota javljaju se samostalno ili kao klasteri. Osiguravaju platformu za dodavanje histokrvnih antigena ili polilaktosaminoglikana.

Prema klasifikaciji postoji 8 tipova mucinskih jezgri

Početak stvaranja mnogih proteoglikana

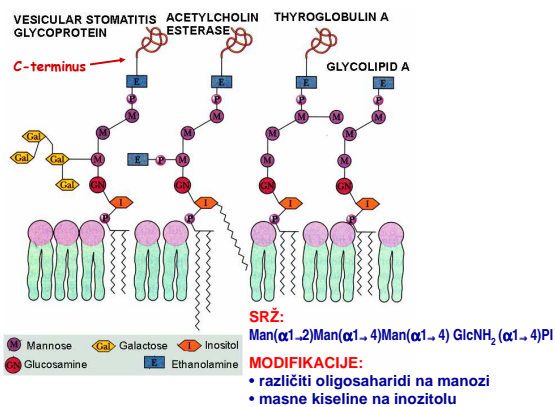
## Vežanje N-acetilglukoamina (O-GlcNAc) na proteine je regulatorna modifikacija



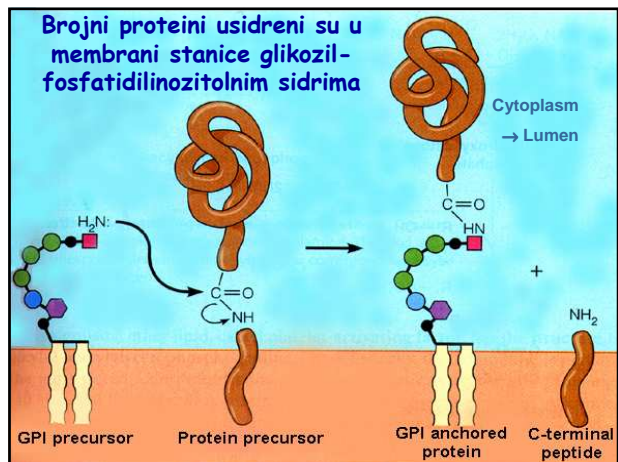
jedna molekula GlcNAc vezana O-glikozidnom vezom na Ser ili Thr

- RNA polimeraza (Kelly, 1993)
- c-myc (Chou i sur. 1996)
- p53 (Shaw i sur. 1996)

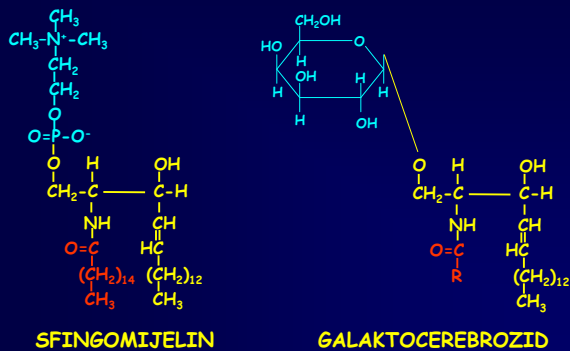
## GLIKOZIL FOSFATIDILINOSITOLNA SIDRA



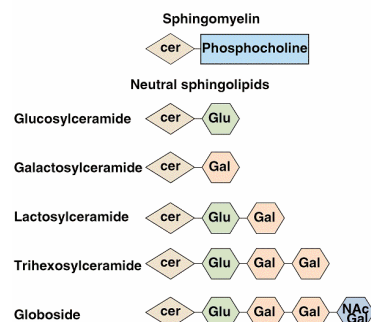
## Brojni proteini usidreni su u membrani stanice glikozil-fosfatidilinozitolnim sidrima



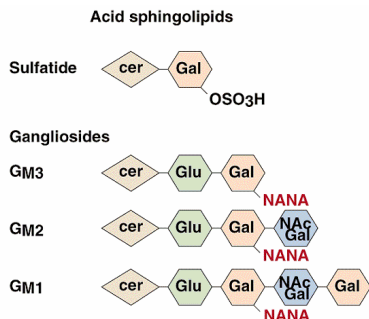
## SFINGOMIJELINI I CEREBOZIDI (SFINGOLIKOLIPIDI)



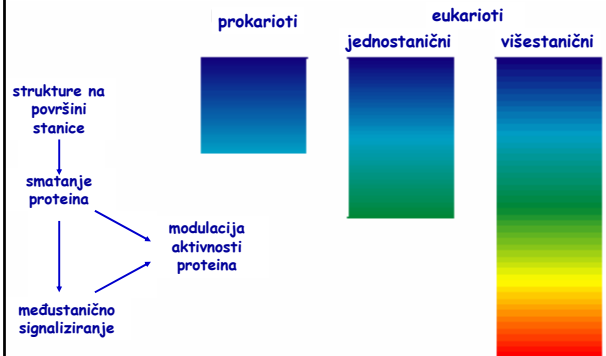
## Primjeri neutralnih glikolipida



## Primjeri kiselih glikolipida

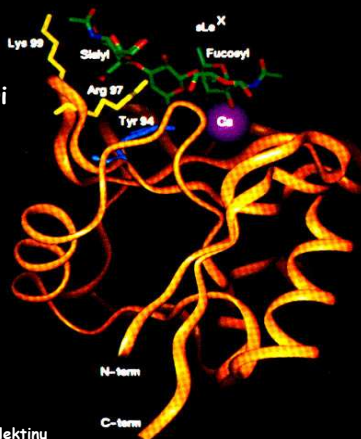


## Tijekom evolucije oligosaharidi vezani na proteine poprimali su nove funkcije

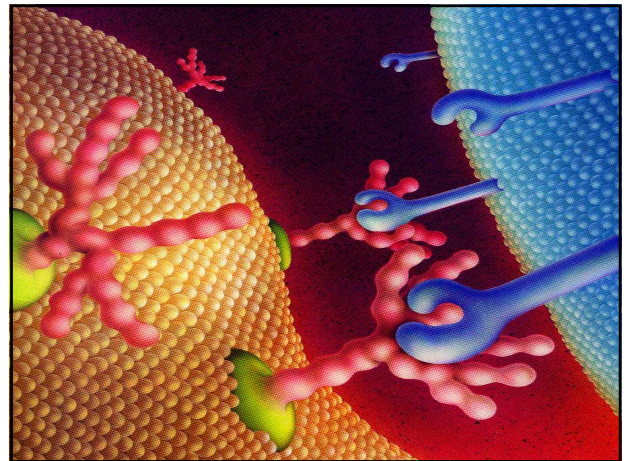


## Lektini

- fiziološki receptori glikokonjugata
- "tumači" molekularnih informacija pohranjenih u oligosaharidnim strukturama glikokonjugata



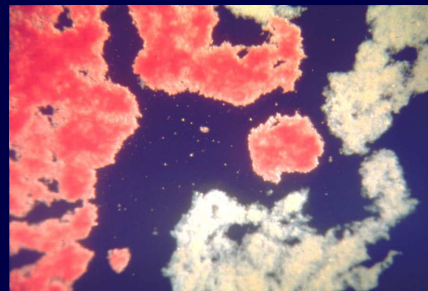
vezno mjesto SLe<sup>x</sup> na E-selektinu



## Prepoznavanje glikoproteina - lektin ključno je za brojne fiziološke procese

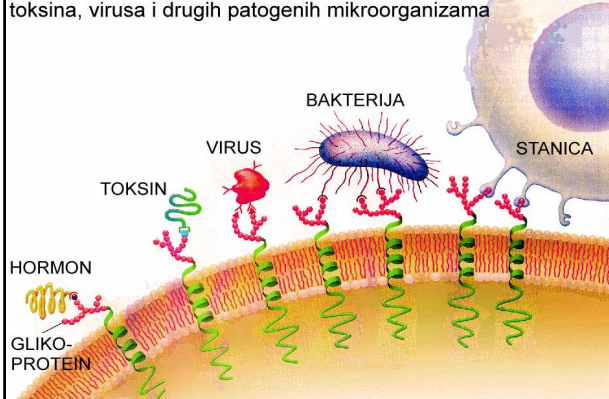
- Embrionalni razvoj i diferencijacija tkiva
  - (kongenitalni poremećaji glikozilacije, CDG)
- Interakcije receptor-ligand
  - hormoni: gonadotropini, eritropoetin
- Oplodnja (interakcije spermij-jajašce)
- Kontrola imunog sustava
  - IgE vezujući faktor
  - aktivacija T limfocita
  - manozna-vezujući protein: liza posredovana komplementom
- Usmjeravanje stanica u tkiva
  - L-selektin na limfocitima usmjerava ih u limfne žilove
  - rolling leukocita i adhezija na endotelni E-selektin
- Unutarstanično usmjeravanje proteina u organele
  - Manozna-6-fosfat je signal za usmjeravanje u lisosome

## Velik dio međustaničnih interakcija uključuje glikokonjugate

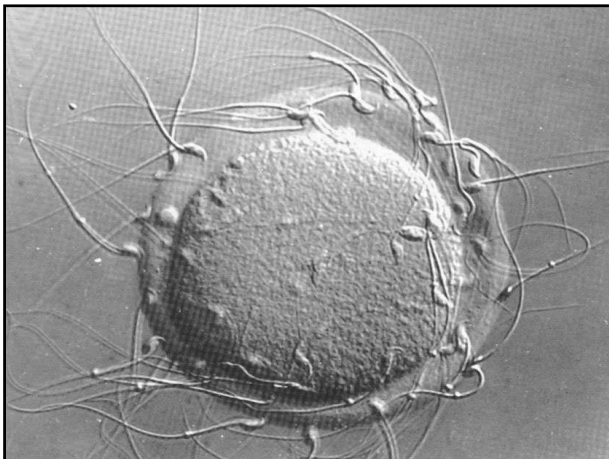
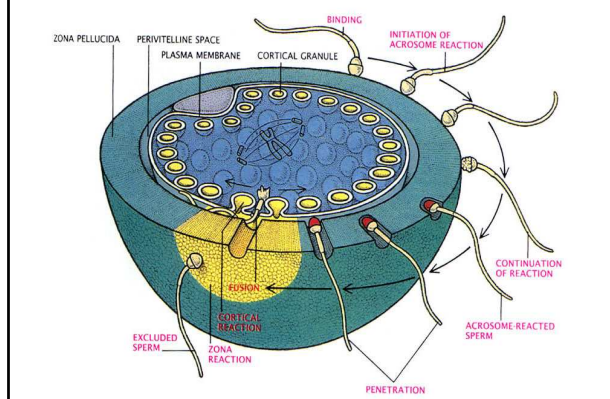


Disocirane stanice crvene i bijele spužve međusobno se prepoznaju zahvaljujući specifičnim interakcijama glikokonjugata i lektina

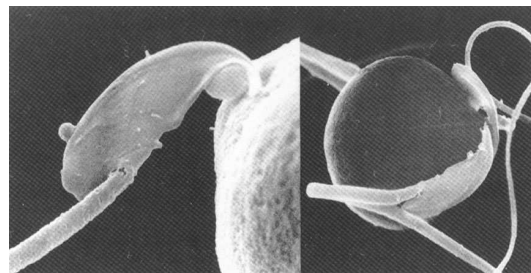
Ugljikohidratne strukture na površini stanice sudjeluju u međustaničnom prepoznavanju te vezanju različitih hormona, toksina, virusa i drugih patogenih mikroorganizama



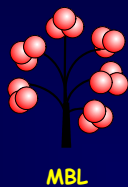
## Glikokonjugati su ključni za oplodnju



Protein ZP3 iz zone pelucide sudjeluje u prepoznavanju spermija i jajne stanice

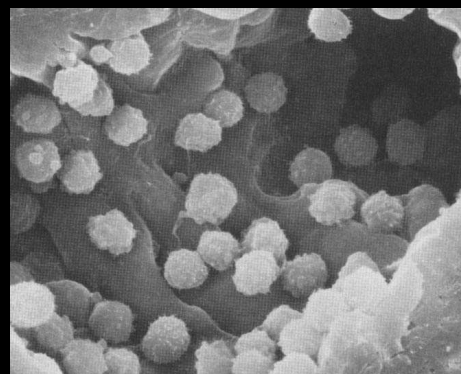


Lektin koji veže manozu (MBL) važni je dio urođenog imunog odgovora



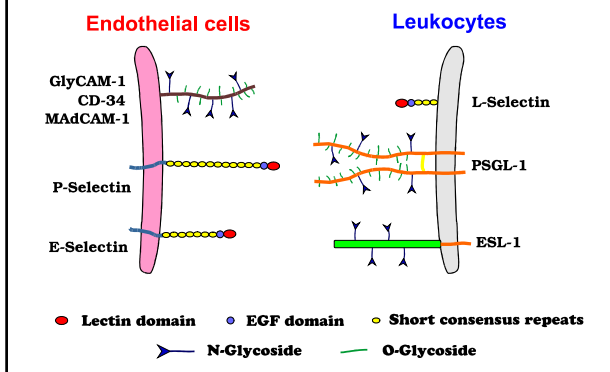
Glikoproteini na površini nižih organizama pretežito sadrže visoko-manozne šećere koje prepoznaje MBL (razmak između veznih mjesta je takav da ne prepoznaje endogene oligomanozne glikoproteine) i pokreće reakciju komplementa kojom ubija patogene. Djeca koja nemaju funkcionalni MBL pate od čestih gljivičnih infekcija, ali u odraslog čovjeka MBL nije neophodan.

Interakcija lektina i glikoproteina ključna je za usmjeravanje limfocita u procesu upale

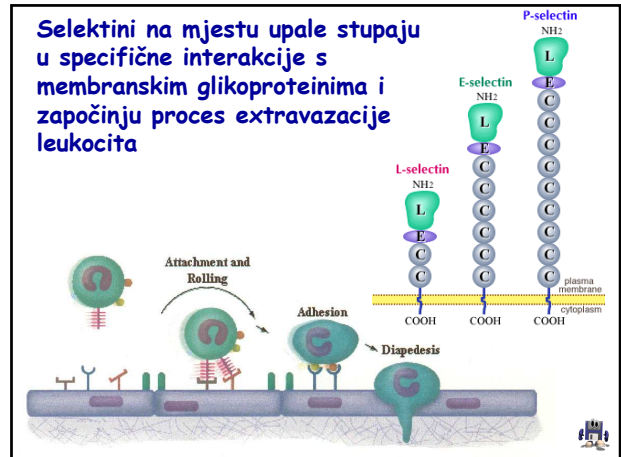




Pojava specifičnih šećernih struktura na membrani endotelija je signal koji pokreće složeni proces upale



Selektini na mjestu upale stupaju u specifične interakcije s membranskim glikoproteinima i započinju proces extravazacije leukocita



### Glikobiologija stresa

