

# Struktura i funkcija lipidnih splavi

---

Šćulac, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:042826>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-20**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijski odsjek

Petra Šćulac

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

## **Struktura i funkcija lipidnih splavi**

### **Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za biokemiju

Mentor rada: doc.dr.sc. Morana Dulić

Zagreb, 2019. godina.

Datum predaje prve verzije Završnog rada:

15. srpnja 2019.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

20. rujna 2019.

Mentor rada: doc.dr.sc. Morana Dulić

Potpis:



## Sadržaj

<b>§ SAŽETAK.....</b>	<b>VI</b>
<b>§ 1. UVOD.....</b>	<b>1</b>
<b>§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Struktura lipidnih splavi .....</b>	<b>3</b>
2.1.1. Strukturni lipidi.....	4
2.1.2. Lipidno – lipidne i lipidno – proteinske interakcije .....	7
2.1.3. Kaveole i kaveolin.....	10
<b>2.2. Funkcija lipidnih splavi .....</b>	<b>12</b>
2.2.1. Prijenos signala .....	12
2.2.2. Receptorske tirozin-kinaze .....	13
2.2.3. G protein-spregnuti receptori .....	14
2.2.4. Endocitoza.....	16
<b>§ 3. POPIS KRATICA.....</b>	<b>17</b>
<b>§ 4. LITERATURNI IZVORI.....</b>	<b>XVIII</b>



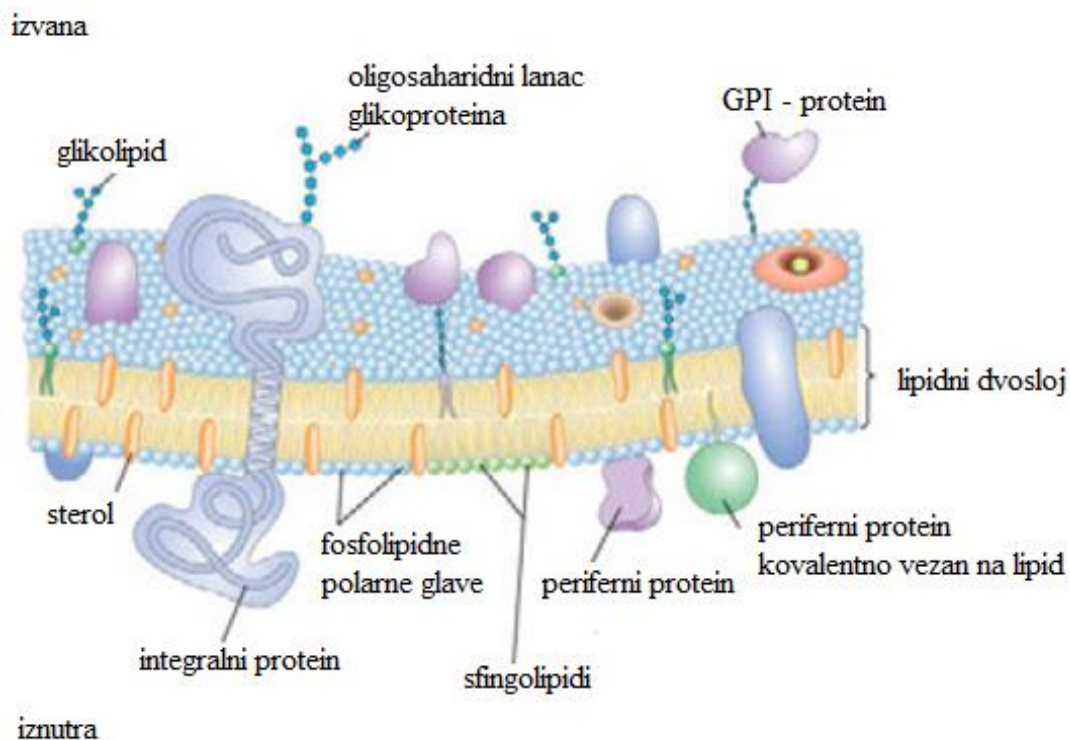
## § Sažetak

Lipidne splavi su regije stanične membrane bogate kolesterolom i sfingolipidima. Do stvaranja dolazi zbog povezivanja dugih zasićenih acilnih lanaca sfingolipida s kolesterolom. Iako su to male regije one se mogu stabilizirati formiranjem većih platformi kroz proteinsko – proteinske i proteinsko – lipidne interakcije. Postoje u dvije faze, tekuća - neuređena faza i tekuća - uređena faza za koju se smatra da je pravi model za prikaz lipidnih splavi. Mogu se ravnomjerno proširiti po površini membrane ili mogu nastati male invaginacije koje se zovu kaveole. One nastaju polimerizacijom kaveolina. Glavna funkcija splavi je prijenos signala. Splavi sadrže signalne proteine koji se mogu povezati nakon stimulacije primarnim glasnikom što dovodi do povezivanja komponenti i aktivacije signalnog puta. Ali, splavi isto tako mogu odvojiti interakcijske komponente kako bi blokirale ili potisnule aktivnost signalnih proteina. Smatra se da lipidne splavi sudjeluju i u procesu endocitoze.

## § 1. UVOD

Stanične membrane su selektivno propusne barijere koje odvajaju stanični prostor od izvanstaničnog. Iako postoji velika raznolikost bioloških membrana i po strukturi i funkciji one imaju mnogo toga zajedničkog. Membrane su plošne strukture koje se sastoje od lipida i proteina, a ponekad i ugljikohidrata koji su vezani za te lipide i proteine. Membranski lipidi su molekule koje imaju hidrofobne i hidrofilne dijelove. Membrane su nekovalentne, asimetrične, fluidne strukture električki polarizirane. Kako bi se što bolje objasnila organizacija bioloških membrana, Jonathan Singer i Garth Nicolson su osmislili model tekućeg mozaika (slika 1). Taj model opisuje biološke membrane kao dvodimenzionalne otopine orijentiranih lipida i globularnih proteina. Membranu grade fosfolipidi koji se slažu u dvosloj; hidrofobna strana lipida okrenuta je prema unutrašnjosti, a polarna hidrofilna glava prema van gdje interagira s vodom. Raspored proteina i lipida je asimetričan tako da membrane imaju dvije strane. Proteinske domene izložene s jedne strane dvosloja razlikuju se od domena s druge strane dvosloja. Unutrašnjost membrane je fluidna pa proteini „plutaju“ u moru lipida. Lipidi i proteini se mogu kretati lateralno u ravnini membrane zbog nekovalentnih interakcija dok je transvezalna difuzija iz jednog sloja u drugi ograničena. U lipidnom dvosloju još se nalaze i čvrsto vezani integralni membranski proteini. Oni se od membrane odvajaju uz pomoć reagensa koji narušavaju hidrofobne interakcije – deterdženti ili organska otapala. Periferni membranski proteini se vežu elektrostatskim interakcijama i vodikovim vezama sa hidrofilnim domenama integralnih proteina te sa polarnim glavama membranskih lipida. Od membrane se odvajaju dodatkom ureje, promjenom pH vrijednosti ili ionske jakosti.<sup>1</sup>





Slika 1. Model tekućeg mozaika za plazma membranu (preuzeto i prilagođeno iz ref. 2)

Prema modelu kojega su razvili Simons i Van Meer na membrani se formiraju čvrsto vezane, heterogene, nanometarske, signalne regije koje se mogu sjediniti u veće regije – splavi. Model opisuje povezivanje dugih lanaca zasićenih sfingolipida i kolesterola gdje kolesterol djeluje poput “ljepila” ispunjavajući praznine između molekula sfingolipida. Stoga je cilj ovog rada prikazati jedinstvena svojstva, sastav i funkciju lipidnih splavi.

## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

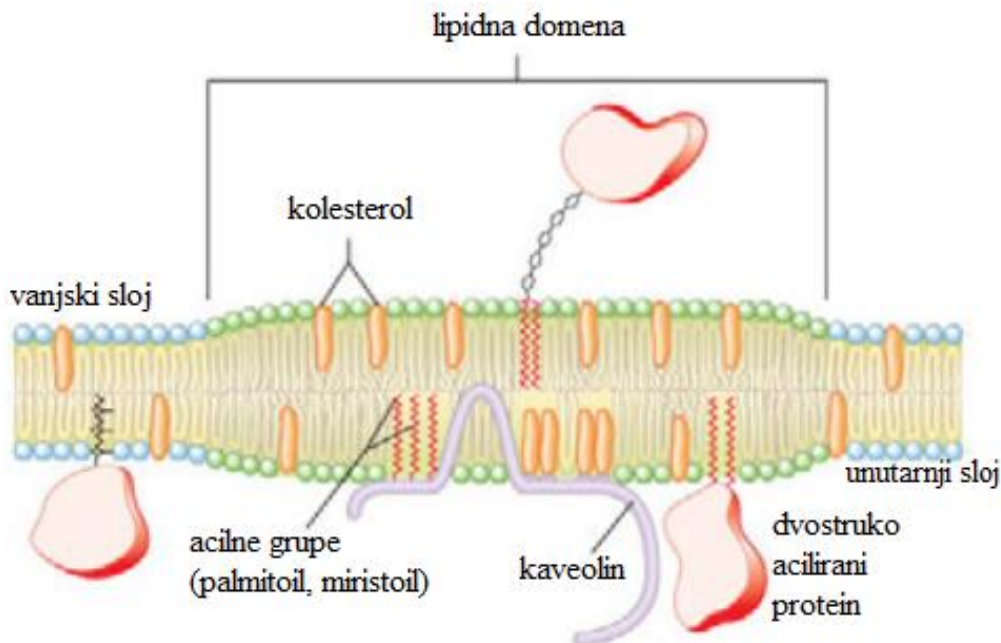
### 2.1. Struktura lipidnih splavi

Lipidne splavi su heterogene, dinamične, membranske nanoregije (10 – 200 nm). Mogu oblikovati mikroskopske regije (> 300 nm) stvaranjem klastera uz proteinsko-proteinske i proteinsko-lipidne interakcije. Time se formiraju funkcionalne platforme za regulaciju staničnih procesa. Regije su prisutne u vanjskim i unutarnjim slojevima asimetrične stanične membrane.<sup>3</sup>

U fluid membrane su uklopljene poput platformi tako da je dio građen od kolesterola, sfingomijelina i gangliozida okrenut prema egzoplazmi, donosno vanstaničnom prostoru, a dio građen od kolesterola i fosfolipida (fosfatidilinozitol, fosfatidilserin i fosfatidiletanolamin) okrenut prema unutarnjem dijelu odnosno citoplazmi (slika 2). Lipidne domene fosfolipida građene su od zasićenih masnih kiselina čiji udio je ovdje znatno veći nego u dijelu membrane koji je izvan splavi. U strukturi splavi nalaze se još i proteini: dvostruko acilirani proteini (tirozin-kinaze i Src-kinaze,  $G_{\alpha}$  podjedinica heterotrimernih G proteina), GPI-usidreni proteini, proteini povezani s kolesterolom i palmitatima (Hedgehog protein) i trasmembranski proteini (hemaglutinin,  $\beta$ -sekretaza). U vanjskom sloju, praznine popunjava kolesterol pri čemu dolazi do povezivanja dugih lanaca zasićenih sfingolipida i kolesterola. Takvo čvrsto pakiranje je povoljnije od pakiranja s nezasićenim acilnim lancima što je izrazito važno za organizaciju splavi.<sup>4,6</sup>

Regije postoje u dvije različite faze. To su  $L_o$  ili tekuća – uređena faza i  $L_d$  odnosno tekuća – neuređena faza.  $L_o$  je čvrsto zapakirana regija bogata zasićenim lipidnim vrstama (sfingolipidima) i kolesterolom.  $L_d$  je više fluidna regija građena od nezasićenih lipida (glicerofosfolipida).  $L_o$  faza se smatra modelom za prikaz lipidnih splavi.<sup>5,9</sup>

Splavi se formiraju u Golgijevom tijelu nakon sintetiziranja kolesterola i sfingomijelina u endoplazmatskom retikulumu. Postoje dvije vrste lipidnih splavi : planarne (glikolipidne) splavi i kaveole. Planarne splavi su u ravnini s plazmatskom membranom i sadrže flotilinske proteine. Na membranama se mogu uočiti i manja ulegnuća - kaveole. Kaveole sadrže visok udio kolesterola i glikosfingolipida, ali se razlikuju od planarnih splavi po proteinu kaveolinu koji je odgovoran za stabilnost kaveola.<sup>4,5</sup>

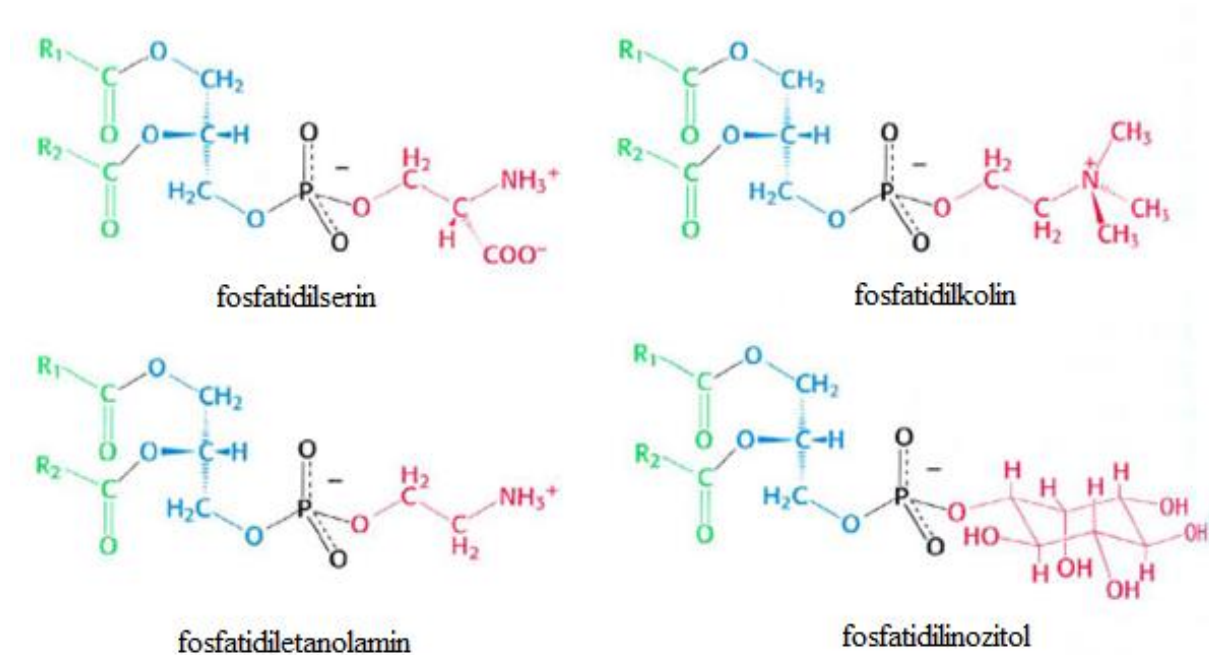


Slika 2. Prikaz izgleda lipidne splavi (preuzeto i prilagođeno iz ref. 2)

### 2.1.1. Strukturni lipidi

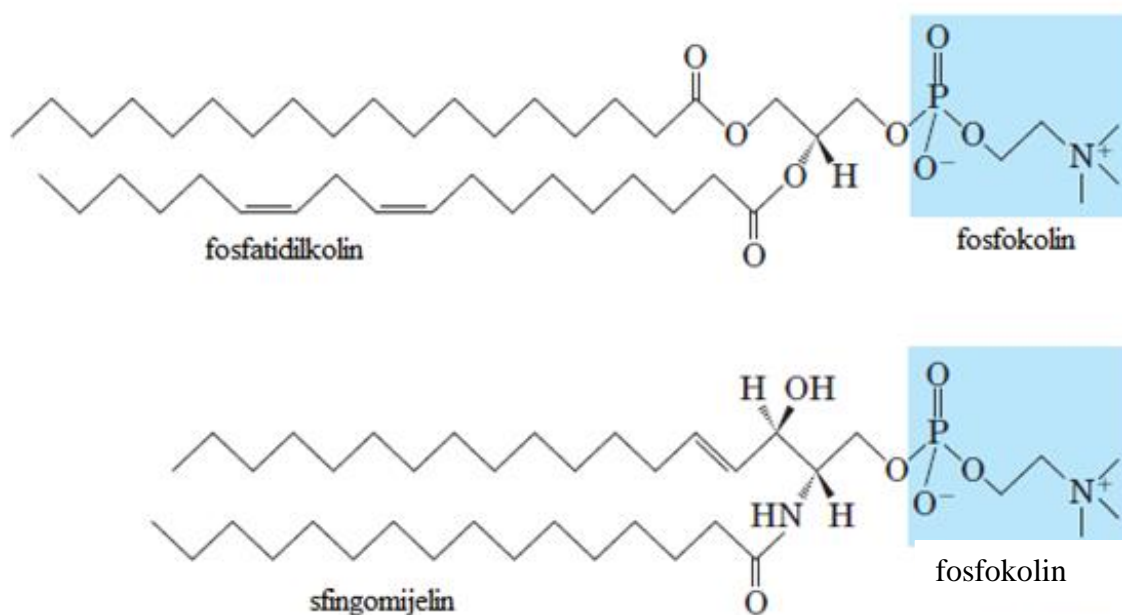
Strukturni lipidi se dijele na pet skupina membranskih lipida: glicerofosfolipide, galaktolipide i sulfolipide, proteine arheja, sfingolipide, sfingozine i sterole.<sup>2</sup> No, lipidne splavi sadrže samo neke od tih skupina lipida.

Glicerofosfolipidi se još nazivaju i fosfogliceridima. Građeni su od dvije masne kiseline koje su esterskom vezom vezane na C-1 i C-2 atom glicerola. Na C-1 atom se veže C<sub>16</sub> ili C<sub>18</sub> zasićena masna kiselina, a na C-2 se veže C<sub>18</sub> ili C<sub>20</sub> nezasićena masna kiselina. Fosfatidilinozitol, fosfatidilserin i fosfatidiletanolamin nastaju iz fosfatidata stvaranjem esterske veze između fosfata i hidroksilne skupine jednog iz skupine alkohola uključujući aminokiselinu serin, etanolamin te inozitol (slika 3).<sup>2</sup>



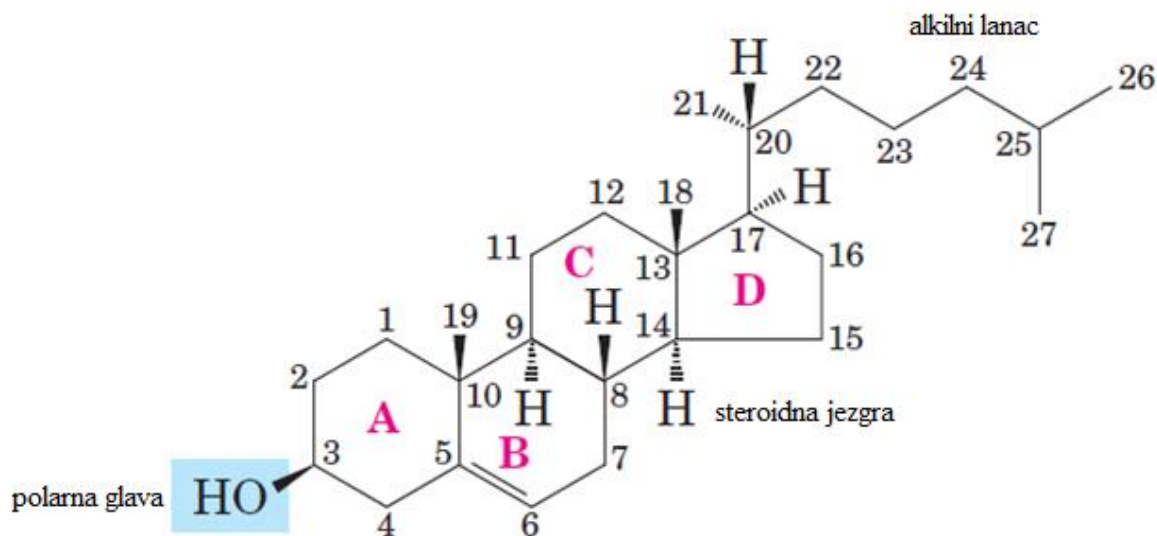
Slika 3. Strukture membranskih fosfoglicerida (preuzeto i prilagođeno iz ref. 2)

Sfingolipidi su derivati sfingozina. Građeni su od polarne glave, dva nepolarna repa i ne sadrže glicerol. Ugljikovi atomi (-C-1, C-2, C-3) sfingozina strukturno su analogni trima ugljikovim atomima glicerola u glicerofosfolipidima. Sfingolipidi su derivati ceramida i dijele se na sfingomijeline, glikosfingolipide i ganglioziide. Ceramid, strukturno sličan diacilglicerolu, nastaje povezivanjem masne kiseline amidnom vezom na  $-NH_2$  skupinu na C-2 atomu sfingozina. Polarna glava sfingomijelina građena je od fosfokolina ili fosfoetanolamina. Po svojoj strukturi je sličan fosfatidil-kolinu (slika 4). Glikosfingolipidi imaju polarnu glavu koja se sastoji od jednog ili više šećera spojenih na  $-OH$  skupinu na C-1 atomu ceramida. Neutralni su i ne sadrže fosfat. Ganglioziidima polarnu glavu čine oligosaharidi i na terminusu jedna ili više salicilnih kiselina zbog koje su negativno nabijeni pri  $pH = 7$ .<sup>2</sup>



Slika 4. Molekularne strukture fosfatidilkolina i sfingomijelina  
(preuzeto i prilagođeno iz ref. 2)

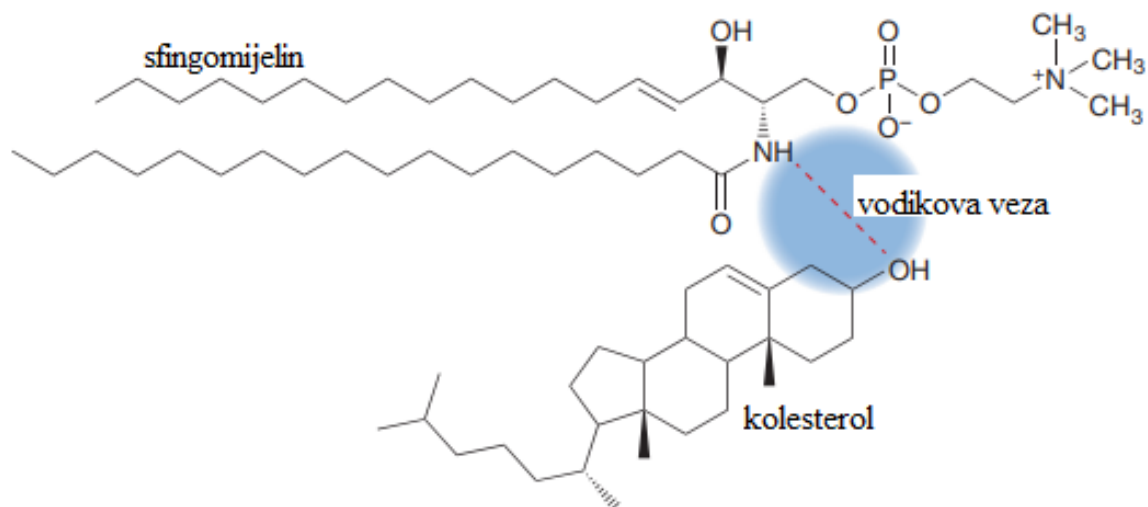
Steroli imaju karakterističnu steroidnu jezgru koju čine četiri sraštena prstena (tri prstena sa šest ugljikovih atoma i jedan prsten s pet ugljikovih atoma). Takva steroidna jezgra je gotovo planarna i rigidna. Najpoznatiji sterol je kolesterol prikazan na slici 5. Molekula građena od polarne glave koju predstavlja  $-OH$  skupina na C-3 i nepolarnog tijela kojeg čine steroidna jezgra i ugljikovodični lanac na C<sub>17</sub>. Hidroksilna skupina kolesterola tvori vodikovu vezu s polarnom glavom fosfolipida, a ugljikovodični lanac se smješta u nepolarni dio lipidnog dvosloja. Kolesterol ima ključnu ulogu u nastanku i održavanju strukture splavi. Djeluje poput “ljepila” vežući se za sfingolipide. Koncentracija kolesterola unutar lipidnih splavi dvostruko je viša od koncentracije izvan splavi. Glavni je regulator endocitoze ovisne o lipidnim splavima i utječe na ekspresiju, dinamiku i sposobnost stvaranja kaveola.<sup>2,5,9</sup>



Slika 5. Struktura kolesterola (preuzeto i prilagođeno iz ref. 2)

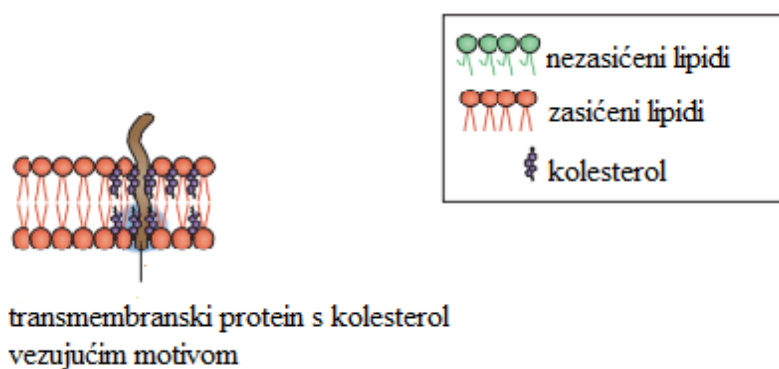
### 2.1.2. Lipidno – lipidne i lipidno – proteinske interakcije

Varijacije u sastavu lipida i interakcije proteina i lipida imaju važnu ulogu u regulaciji splavi. Neki proteini, uključujući glikoprotein gp41 iz HIV-a imaju „motiv“ za vezanje kolesterola dok se neki drugi proteini specifično vežu na glikosfingolipide ili sfingomijelin. Za formiranje regija važne su lipidno – lipidne interakcije između kolesterola i sfingolipida. Interakcija između tih lipidnih vrsta nastaje zbog zasićenosti sfingolipidnih hidrofobnih repova, ali i zbog nastanka vodikove veze između sekundarne amino skupine sfingomijelina i hidroksilne skupine kolesterola prikazane na slici 6. <sup>3</sup>



Slika 6. Lipidno – lipidne interakcije (preuzeto i prilagođeno iz ref. 3)

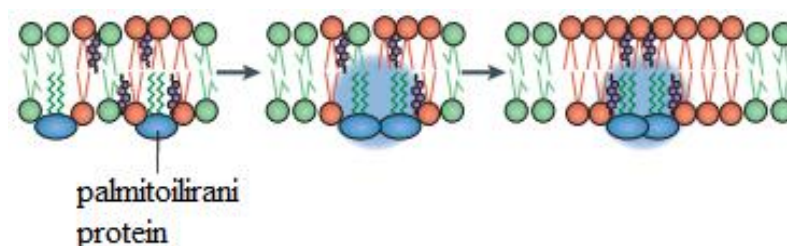
Neki proteini sadrže domene za vezanje lipida preko kojih stupaju u interakciju s kolesterolom ili sfingolipidima (slika 7). Lipidno-proteinske interakcije određuju afinitet proteina za određene lipidne regije.<sup>3</sup>



Slika 7. Transmembranski protein u interakciji s kolesterolom (preuzeto i prilagođeno iz ref 3)

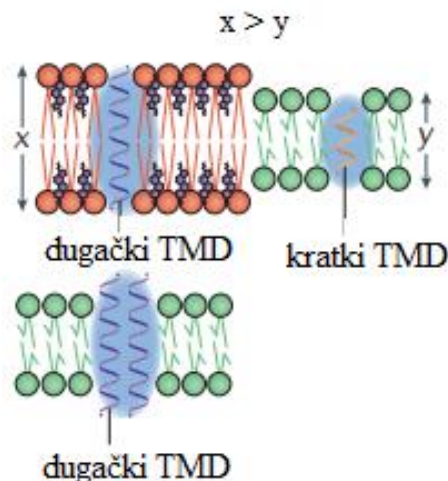


Proteini koji su modificirani vezanjem zasićenog acilnog lanca kao što je palmitoilna skupina djeluju kao organizatori regija lipidnih splavi (slika 8).<sup>3</sup>



Slika 8. Proteini kao organizatori regija (preuzeto i prilagođeno iz ref. 3)

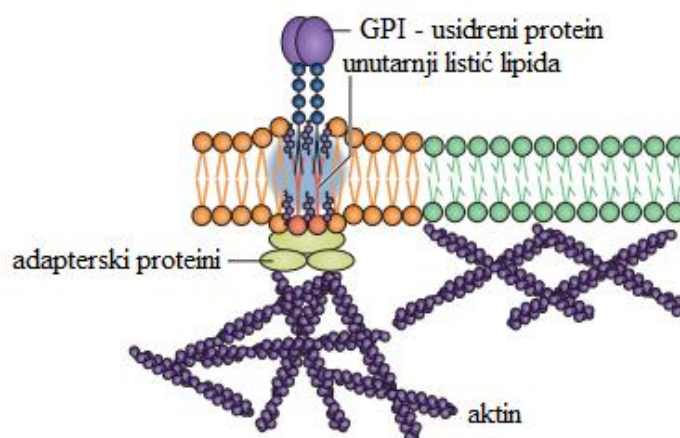
Hidrofobne interakcije mogu doprinijeti organizaciji i sastavu regija. Proteini koji se razlikuju po duljini transmembranskih domena (TMD) segregiraju se u različitu lipidnu okolinu koja osigurava da su njihove hidrofobne TMD zaštićene od izlaganja vodenom okruženju. Proteini s dugim TMD povezuju se s domenama bogatim zasićenim lipidima (slika 9, gore). Kada dođe do neusklađenosti između duljine TMD i lipidne okoline u kojoj se nalazi protein dolazi do proteinsko-proteinskih interakcija. To dovodi do povećanja udjela proteina (slika 9, dolje).<sup>3</sup>



Slika 9. Hidrofobna usklađenost ili neusklađenost (preuzeto i prilagođeno iz ref. 3)



Unutarnji slojevi membrane koji sadrže dugolančane zasićene acilne lance su imobilizirani aktinskim klasterima. Klasteri nastaju zbog interakcija između aktina i membranskih lipida (fosfatidilserina) ili adapterskih proteina (posjeduju domene za vezanje fosfatidilserina i domene za vezanje aktina). Imobilizacija rezultira povezivanjem lipida koji sadrže dugolančane acilne lance s GPI-usidrenim proteinima u prisutnosti kolesterola (slika 10).<sup>3</sup>



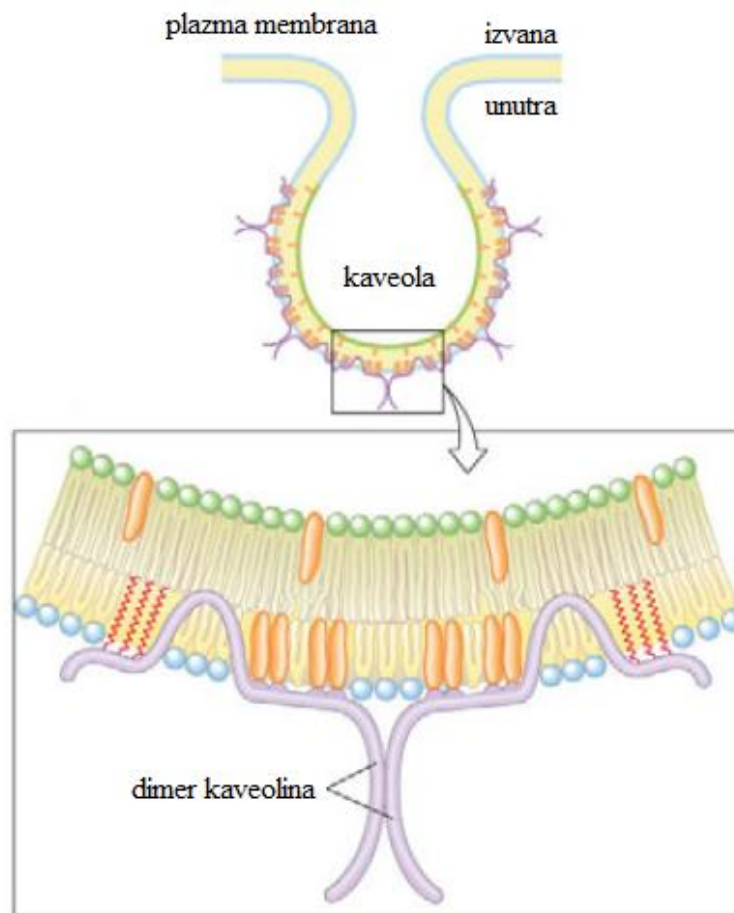
Slika 10. Imobilizacija lipida s GPI – usidrenim proteinima (preuzeto i prilagođeno iz ref. 3)

### 2.1.3. Kaveole i kaveolin

Kaveole su ulegnuća stanične membrane nastala njenim uvijanjem uslijed povezivanja s kaveolinom. Bogate su kolesterolom i sfingolipidima. Kaveole se nalaze u različitim tkivima i stanicama poput glatkih mišića, fibroblasta, endotelnih stanica i adipocita. Funkcije kaveola su raznolike i uključuju endocitozu, transcitozu, potocitozu, kalcijevu signalizaciju i regulaciju različitih signalnih događaja.<sup>4,9</sup>

Glavni strukturni protein je kaveolin. Kaveolini su obitelj proteina koju čine kaveolin-1 (cav-1), kaveolin-2 (cav-2) i kaveolin-3 (cav-3). Kaveolin je integralni membranski protein koji sadrži tri dugolančane acilne skupine i dugačku, hidrofobnu domenu preko koje se veže na citoplazmatsku stranu stanične membrane. Formira dimere i povezuje ih sa regijama bogatim kolesterolom u membranama. Prisutnost tih dimera dovodi do nastanka kaveola (slika 11). Činjenica da ekspresija cav-1 nije dovoljna za stvaranje kaveola ukazuje da je cav-1 prisutan i u stanicama kojima nedostaju kaveole. Cav-1 regulira procese izvan kaveola te ima sposobnost vezanja različitih vrsta signalnih proteina kao što su podjedinice G proteina, receptorske i nerekceptorske tirozin – kinaze, sintaze dušikovog okida i GTP-aze. Kaveolini se sintetiziraju u

membrani endoplazmatskog retikuluma odakle se prenose u Golgijevo tijelo, a cijeli taj transportni put je stimuliran kolesterolom.<sup>4,9</sup>



Slika 11. Prikaz lokacije i uloge kaveolina u nastanku ulegnuća stanične membrane (preuzeto i prilagođeno iz ref. 2)

## 2.2. Funkcija lipidnih splavi

Lipidne splavi imaju veliku ulogu u raznim staničnim procesima uključujući promet i izgradnju stanične membrane, staničnoj polarizaciji, prijenosu signala. Uključene su i u ceramid - sfingomijelin signalizaciju koja regulira rast, preživljavanje i smrt stanice. Neke skupine patogena, virusa, priona i bakterija koriste lipidne splavi za svoje potrebe pa su tako uključene i u mehanizam nastanka bolesti poput Alzheimerove, Parkinsonove bolesti, mišićne distrofije, polineuropatije, autoimunih bolesti, astme, ateroskleroze, hipertenzije, dijabetesa, sepse, gastrointestinalne ulkuse i mnoge druge. Lipidne splavi su mete brojnih bakterijskih i virusnih infekcija. Od bakterijskih su najpoznatije infekcije bakterijama *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella*, *Shigella* i *Colostridium tetani*, a od virusnih su to HIV-1, Epstein-Barrov virus, Echovirus 1 i virus gripe.<sup>4</sup>

### 2.2.1. Prijenos signala

Postojanje različitih vrsta lipidnih splavi dovodi do implikacija za funkciju ovih mikrodomena u prijenosu signala.

U jednostavnom slučaju, splavi se promatraju kao signalne domene koje služe za kolokalizaciju potrebnih komponenti. Na taj način je olakšana njihova interakcija i signalizacija. Receptori, enzimi i supstrati su lokalizirani u jednome splavu. Put prijenosa signala aktivira se vezanjem hormona te se sam prijenos signala odvija vrlo brzo i efektivno zbog blizine komponenti. Vezanjem određene vrste receptora na određenu vrstu splavi koja sadrži specifičnu skupinu signalnih komponenti dodatno se poboljšava prijenos signala.<sup>6</sup>

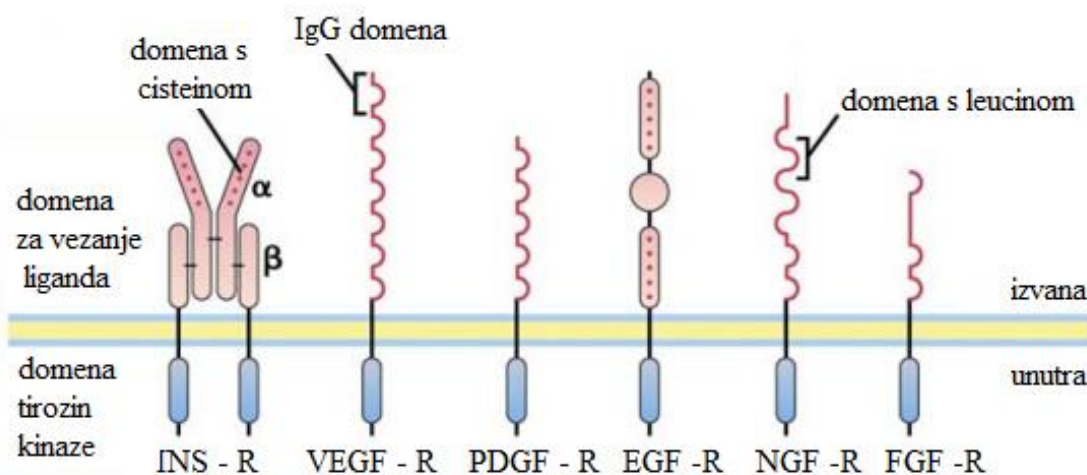
U kompliciranom slučaju, komponente signalnog puta su podijeljene u različite lipidne splavi. Stimulacija stanice hormonom dovodi do trenutne fuzije lipidnih splavi. Potpuni prijenos signala postiže se ugradnjom receptora u splav. U takvim slučajevima za normalan prijenos signala nije potreba lokalizacija proteina na lipidne splavi. Umjesto toga, lipidne splavi osiguravaju razdvajanje proteina koji bi inače interagirali što bi dovelo do neregulirane aktivacije prijenosa signala. To implicira da bi poremećaj lipidnih splavi doveo do neregulacije nekih signalnih puteva.<sup>6</sup>

Lipidne splavi mogu kontrolirati prijenos signala moduliranjem intrinzičnih aktivnosti proteina. Isto tako mnogi proteini lipidnih splavi nisu lokalizirani na splavima već se nalaze na drugim dijelovima stanične membrane. Primjer takvog ponašanja su receptorske tirozin - kinaze

koje se ponašaju različito kada se nalaze unutar splavi i kada su vezane na membranu stanice. U takvim situacijama je moguće da isti receptor aktivira različite signalne puteve.

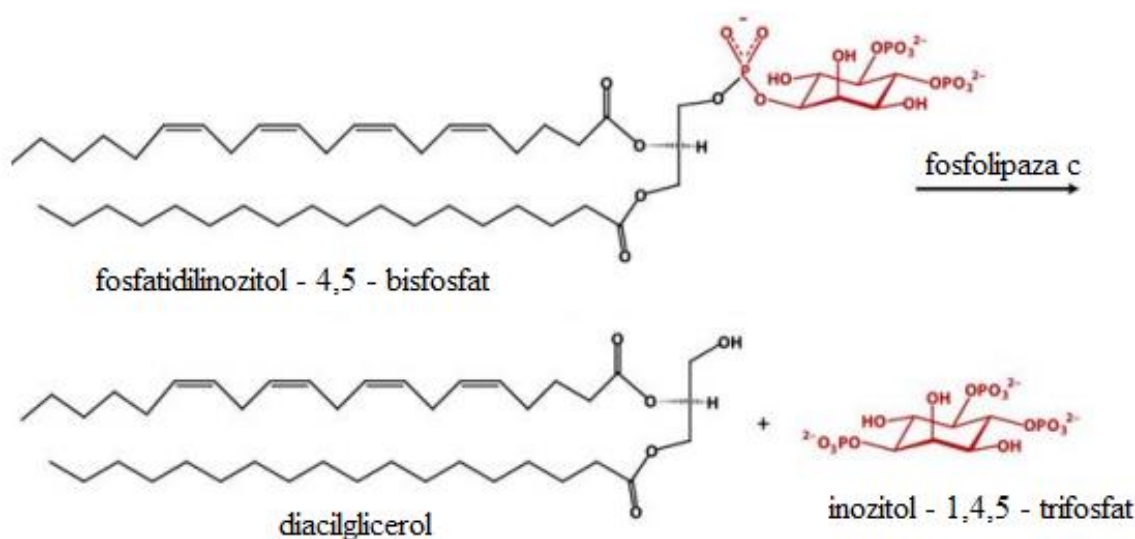
### 2.2.2. Receptorske tirozin-kinaze

Mnoge receptorske tirozin-kinaze, lokalizirane su na lipidnim splavima, uključujući EGF receptor, PDGF receptor i inzulinski receptor (slika 12). Autofosforilacija PDGF receptora kao i fosforilacija tirozina drugih staničnih supstrata se događa u lipidnim splavima. Isto tako, fosforilacija TrkA NGF receptora se događa u splavima i samo je u tom određenom dijelu TrkA povezana sa signalnim molekulama Shc i fosfolipazom C<sub>v</sub>. EGF receptor aktivira MAPK signalni put preko lipidnih splavi. Stimulacija Raf-1 stanica EGF-om dovela je do regrutiranja Raf-1 u lipidne splavi. MAPK signalni put može započeti samo iz tog određenog dijela splavi budući da je regrutiranje Raf-1 na membranu inicijalni korak u aktivaciji MEK, a potom i MAPK.<sup>6</sup>



Slika 12. Receptorske tirozin-kinaze (preuzeto i prilagođeno iz ref. 7 )

Tirozinske-kinaze aktiviraju i druge puteve prijenosa signala unutar splavi. Signali aktiviraju fosfolipazu C<sub>γ</sub> čime se oslobađaju dva produkta, inozitol-1,4,5-trifosfat i diacilglicerol, koji se ponašaju kao unutarstanični glasnici (slika 13). Lipidne splavi odgovorne su i za fosforilaciju inzulinskog receptora, IRS-1, ATP-citrat liaze, unos i oksidaciju glukoze potaknutu inzulinom, za aktivaciju PI-3 kinaze stimuliranu PDGF receptorom. U lipidnim splavima započinju različiti signalni putevi koji koriste i proteinske i lipidne komponente te one olakšavaju signalizaciju komponenti stvarajući brzu i učinkovitu interakciju.<sup>6</sup>



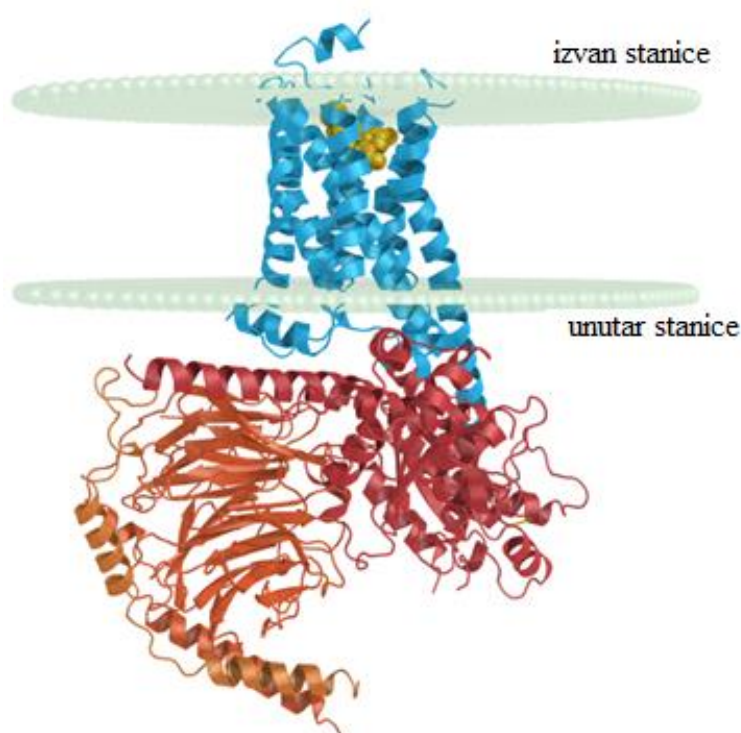
Slika 13. Fosfoinozidna kaskada i nastanak glasnika cijepanjem fosfatidilinozitola-4,5-bisfosfata (preuzeto i prilagođeno iz ref. 7)

### 2.2.3. G protein-spregnuti receptori

Velik broj G protein-spregnutih receptora nalazi se u lipidnim splavima i kaveolama. To uključuje  $\beta_1$  i  $\beta_2$ -adrenergične receptore, adozin A<sub>1</sub> receptore, receptore angiotenzina II tipa 1, EDG-1 receptore, endotelinske receptore, m<sub>2</sub> muskarinske kolinergičke receptore, rodopsin,  $\beta_1$  i  $\beta_2$  receptore bradikininu. Ligandom potaknuto kretanje receptora u lipidne splavi može potaknuti asocijaciju receptora s G proteinom. Mnogi G protein-spregnuti receptori su desenzitirani preko mehanizma koji uključuje sekvestraciju receptora s površine membrane.<sup>6</sup>

U lipidnim splavima/kaveolama nalaze se G<sub>s</sub>, G<sub>i</sub>, G<sub>o</sub>, G<sub>q</sub> i transducin. Lokalizacija G proteina u lipidne splavi rezultat je acilacije  $\alpha$  podjedinice tih proteina. G<sub>q</sub> interagira s kaveolama i stoga je lokaliziran u kaveole dok G<sub>i</sub> i G<sub>s</sub> ne vežu kaveolin pa su lokalizirani u

lipidne splavi. Nekoliko efektorskih enzima G proteina prisutno je ili regrutirano u splavi nakon aktivacije receptora. Nekoliko različitih tipova adenilat-ciklaze, uključujući tipove III, IV, V, i VI lokalizirani su na lipidne splavi. Endogena adenilat-ciklaza je konstantno lokalizirana u splavima dok prekomjerna ekspresija adenilat-ciklaze dovodi od njene djelomične raspodjele i u ostale dijelove membrane. Rodopsin je također prisutan u splavima dok stimulacija svjetlom inducira translokaciju transducina i cGMP-fosfofesteraze u splavi. To pokazuje da se već rani koraci prijenosa signala javljaju u lipidnim splavima.<sup>6</sup>



Slika 14. G protein – spregnuti receptor (plavo) vezan na hormon (zlatno) i na heterotrimerni G protein (od crvenog prema narančasto-smeđem) (preuzeto i prilagođeno iz ref. 8)

$\beta_2$ -adrenergični receptori se nalaze u lipidnim splavima – kaveolama. Suprotno tome,  $\beta_1$ -adrenergični receptor i adenilat-ciklaza se nalaze između splavi i membrane. Povećanje aktivnosti  $\beta_1$  u usporedbi s  $\beta_2$ -agonistima proizlazi iz činjenice pa je  $\beta_1$ -adrenergični receptor ostao u splavima nakon stimulacije hormonom dok su agonisti inducivali migraciju  $\beta_2$ -adrenergičnog receptora iz splavi. To odvaja  $\beta_2$ -adrenergični receptor od njegovog G proteina i efektor adenilat-ciklaze čime se smanjuje prijenos signala. Izlazak  $\beta_2$ -adrenergičnog

receptora iz splavi inhibiran je ekspresijom C-terminalnog peptida kinaze  $\beta$ -adrenergičnog receptora ( $\beta$ ARK) koja blokira aktivaciju endogenog  $\beta$ ARK sekvenciranjem  $G\beta\gamma$  podjedinica.<sup>6</sup> Usporedno s time dolazi do povećanja nastanka  $\beta_2$  -adrenergičnog receptora stimuliranog cAMP-om.<sup>6</sup>

Hidroliza fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfata bradikininom pokazuje da se i velik udio fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfata prema tome nalazi u splavima. U splavima je također koncentrirana i proizvodnja fosfatidne kiseline i fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfata. Nastanak fosfatidne kiseline može biti posljedica stvaranja diacilglicerola pretvorbom fosfatidilinozitola. Aktivacija fosfatidilinozitol-3-kinaze se događa u splavima što je povezano s nastankom fosfatidilinozitol-3,4,5-trifosfata.<sup>6</sup>

Endotelin stimulira aktivaciju MAPK preko mehanizma koji uključuje aktivaciju  $G_q$  i fosfolipaze C- $\beta$ . Sposobnost endotelina da stimulira MAPK ovisi o palmitoilaciji receptora endotelina. Lokalizacija endotelin receptora na splavi potreba je za stimulaciju tog  $G_q$  posredovanog signalnog puta.<sup>6</sup>

#### 2.2.4. Endocitoza

Endocitoza je stanični proces u kojem se tvari unose u stanicu. Protein se veže na receptor na staničnoj membrani, a nakon toga specijalizirani proteini potaknu obližnji dio membrane da formira udubljenje koje se potom odvoji i formira vezikulu. Najvažniji putevi endocitoze su endocitoza posredovana klatrinom, endocitoza posredovana lipidnim splavima (kaveolama) te makropinocitoza. Također postoje i endocitoze neovisne o klatrinu i kaveolinu. To ovisi o vrsti stanica, ekspresiji receptora i koncentraciji liganda.

Endocitoza ovisna o lipidnim splavima ovisi o kolesterolu, lipidnim splavima i o kompleksnom signalnom putu koji uključuje tirozin-kinaze i fosfataze. Sposobnost oligomerizacije kaveolina potrebna je za formiranje kaveolarnih vezikula. Oligomerizacija vodi do stvaranja mikrodomena bogatih kaveolinom u plazma membrani. Povećana razina kolesterola i stvaranje mikrodomena s kaveolinom dovodi do širenja kaveolarne invaginacije i stvaranja vezikule. Nakon toga slijedi raspadanje vezikule koje je posredovano GTP-aznim dinaminom-2. Sadržaj vezikula prenosi se u posebne organele kaveosome. Ti organeli se mogu povezati s kasnim endosomima modificiranim tek prekomjernom ekspresijom kaveolina-1. Endocitoza ovisna o lipidnim splavima predstavlja regulirani put ograničen na specifične ligande.<sup>9</sup>

### § 3. POPIS KRATICA

GPI - glycosylphosphatidylinositol

TMD – transmembrane domain

EGF – epidermal growth factor

PDGF – platelet derived growth factor

TrkA – Tropomyosin receptor kinase A

NGF – nerve growth factor

MAPK – mitogen activated protein kinases

IRS – insulin receptor supstate

PI - phosphatidylinositol

cGMP – cyclic guanosine monophosphate

βARK – beta adrenergic receptor kinase

VEGF – vascular epidermal growth factor

FGF – fibroblast growth factor



## § 4. LITERATURNI IZVORI

1. L. Stryer, J. Berg, J. Tymoczko, *Biokemija*, Školska knjiga, 2013, str. 327, 333
2. D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, W. H. Freeman and Co, New York, 2013, str. 362 – 368
3. E. Sezgin, I. Levental, S. Mayor, C. Eggeling, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **18** (2017) 361 – 374
4. K. Simons, R. Ehehalt, *J Clin Invest* **110** (5) (2002) 597 – 603
5. [https://en.wikipedia.org/wiki/Lipid\\_raft](https://en.wikipedia.org/wiki/Lipid_raft) (pristupljeno 9.7.2019.)
6. L. J. Pike, *The Journal of Lipid Research* **44** (2003) 655 – 667
7. [https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/14obk-p15-provodjenje\\_signala.pdf](https://www.pmf.unizg.hr/download/repository/14obk-p15-provodjenje_signala.pdf) (pristupljeno 14.7.2019.)
8. [https://proteopedia.org/wiki/index.php/Image:7tm\\_labeled.png](https://proteopedia.org/wiki/index.php/Image:7tm_labeled.png) (pristupljeno 14.7.2019.)
9. P. Lajoie, I.R. Nabi, *International Review of Cell and Molecular Biology* **282** (2010) 135 – 63