

Broj 2 • septembar 2022. N° 2 • September 2022.



Trendovi u **molekularnoj biologiji**
Trends in **Molecular Biology**



Beograd • Belgrade • 2022.
IMGGI • IMGGE

Pedesetogodišnjica osnivanja studijskog programa molekularna biologija i fiziologija Gordana Matić	8	50th anniversary of the molecular biology and physiology study program
TRPV1: Ciljno mesto dejstva lekova u terapiji različitih stanja Branislava Medić Brkić, Katarina Savić Vujović, Dragana Srebro, Sonja Vučković	15	TRPV1: A Promising drug target for the treatment of various conditions
Geni-modifikatori β -talasemijskih sindroma – novi terapijski pristupi Milena Ugrin	32	Gene modifiers in β -thalassemia syndromes – a new therapy approach
Novi uvid u genetiku naslednih perifernih neuropatija Milica Keckarević Marković, Miljana Kecmanović, Dusan Keckarević	51	Genetics of inherited peripheral neuropathies: renewed data
Savremeni pristupi u istraživanju molekularne osnove karcinoma prostate Zorana Dobrijević, Suzana Matijašević-Joković, Ana Branković, Ana Djordjević, Milica Popović i Goran Brajušković	63	Modern approaches in research of the molecular basis of prostate cancer
Uticaj tumorske mikrosredine na razvoj i progresiju maligniteta Ilona Đorić, Tijana Išić Denčić, Sonja Šelemetjev	75	The effects of tumor microenvironment on malignancy formation and progression
Uloga hsa-miR-93-5p u kolorektalnom karcinomu Jovana Despotović	90	Role of hsa-miR-93-5p in colorectal cancer Jovana Despotović
Antitumorski potencijal novih derivata steroidnih hidrazona Marijana B. Živković	104	Antitumor potential of new steroidal hydrazone derivatives
Molekularna dijagnostika glioblastoma – klinički uticaji <i>IDH</i> mutacija i epigenetičkog utišavanja aktivnosti <i>MGMT</i> gena Nikola Jovanović, Tatjana Mitrović	125	Molecular diagnostics of glioblastoma – clinical impact of <i>IDH</i> mutations and epigenetic silencing of <i>MGMT</i>
Molekularni profil timoma Jelena Perić	143	Molecular profile of thymoma
Ekspresija i funkcija insulina u centralnom nervnom sistemu Tamara Dakić, Predrag Vujović	155	Insulin expression and action in the central nervous system
Neuroprotektivni potencijal progesterona Ivana Guševac Stojanović, Dunja Drakulić	168	Neuroprotective progesterone potential
Uloga dehidroepiandrosterona u moždanoj ishemiji/reperfuziji Marina Zarić Kontić, Jelena Martinović	186	Effect of dehydroepiandrosterone on cerebral ischemia/reperfusion
Hemijski profil i antioksidativna aktivnost crvenih vina klonova autohtone i internacionalnih sorti vinove loze Neda Đorđević	206	Chemical profile and antioxidative activity of red wines obtained from autochthonous and international grape clone varieties
Dihidrohalkoni jabuke florizin i floretin kao nove alelopatske supstance Mariana Stanišić, Slavica Ninković, Nevena Banjac	223	Apple dihydrochalcones phloridzin and phloretin as novel allelochemicals
Dosadašnja postignuća na promeni boje cvetova biljaka metaboličkom modulacijom biosinteze karotenoida Milena Trajković, Sladjana Jevremović, Aleksandar Cingel	238	Recent advances in flower color alteration by metabolic manipulation of carotenoid biosynthesis
Bioinformatički alati za analizu mikroRNK Katarina Zeljić	255	Bioinformatics tools for the analysis of microRNA
Marker porekla kao adut u forenzičkim analizama DNK u kompleksnim slučajevima iz perspektive Y hromozoma Miljana Kecmanović, Milica Keckarević Marković, Dušan Keckarević	275	Lineage marker as a key player in complex forensic cases from the perspective of Y chromosome

Predgovor

Uspostaviti tradiciju je mnogo teže nego realizovati inicijativu. Pokazalo se da je prvi broj tematskog zbornika **Trendovi u molekularnoj biologiji 1** pobudio interesovanje naučne zajednice u Srbiji, tako da drugi broj nije bilo teško sastaviti. Broj poglavlja u tematskom zborniku **Trendovi u molekularnoj biologiji 2** je premašio očekivanja. Kao da je Tematski zbornik simbolično postao - Ko je ko u molekularnoj biologiji u Srbiji. I ponovo se pokazalo da se naučnici u našoj zemlji bave aktuelnim istraživačkim temama i aktivno doprinose napretku molekularne biologije na mnogim poljima. I mladi molekularni biolozi su prikazom svojih doktorskih teza pokazali da prate svetske trendove i savremene naučne pristupe.

Posebnost ovog broja je što se objavljuje u vreme kada obeležavamo jubilej, pedesetogodišnjicu Beogradske škole molekularne biologije, o čemu svedoči tekst u kome je prikazan put razvoja programa za molekularnu biologiju na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Pre više godina na jednom naučnom skupu se govorilo o tome kako saznanja iz molekularne biologije prožimaju sve naučne oblasti koje se bave živim organizmima i kako se može predvideti da će njena primena obeležiti novi vek. Iz auditorijuma je stigao komentar: „Proći će i vaše“. Vreme svedoči da je era molekularne biologije tek počela.

„I šta ćemo sad?“

Sonja Pavlović

Iz recenzija Tematskog zbornika *Trendovi u molekularnoj biologiji*

Drugi broj tematskog zbornika „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ predstavlja nastavak prikazivanja i objavljivanja najznačajnijih naučnih radova proisteklih iz doktorskih disertacija mladih naučnika Srbije, kao i najznačajnijih naučnih rezultata ostvarenih u svetu u oblasti molekularne biologije, u protekloj godini, u kojima su naši naučnici dali svoj doprinos. U ovom broju, prikazano je 18 naučnih radova, od kojih je 12 iz oblasti biomedicine, koji su posvećeni rezultatima ostvarenim u oblasti molekularne biologije retkih bolesti, tumora i centralnog nervnog sistema. Ovi rezultati su od ogromnog značaja za unapređenje dijagnostike i terapije bolesti.

Rezultati koje su naši naučnici ostvarili u oblasti molekularne biologije biljaka prikazani su kroz tri rada, a akcenat u njima je na mogućnosti primene tih rezultata u oblasti ekologije, hortikulture i unapređenja zdravlja ljudi (potraga za ekološki prihvatljivim bioherbicidima, modifikacija boje cveta, biološka aktivnost prirodnih supstanci).

Dva rada su posvećena naprednim metodama u oblasti molekularne biologije i prikazana su u posebnom poglavlju, što smatram veoma važnim.

Posebno bih istakla poglavlje u kojem je prikazan jedan od najznačajnijih naučnih rezultata u svetu u protekloj godini (otkiće receptora za temperaturu i dodir), za koji je dodeljena Nobelova nagrada za fiziologiju i medicinu 2021. godine. Uvodno poglavlje ovog tematskog zbornika posvećeno je značajnom jubileju – pedesetogodišnjici Beogradske škole molekularne biologije, i u njemu je prikazan razvojni put studijskog programa Molekularna biologija i fiziologija na Univerzitetu u Beogradu – Biološkom fakultetu.

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ nastavlja svoju misiju naučne avangarde započetu prošlogodišnjim brojem. Prikazivanjem najkvalitetnijih i najznačajnijih naučnih rezultata ostvarenih u oblasti molekularne biologije u protekloj godini u kojima su naši mladi naučnici dali svoj ogromni doprinos, prenose se informacije širem krugu istraživača i zaposlenih u različitim oblastima (medicina, farmacija, poljoprivreda), čime se otvaraju mogućnosti za saradnju, a samim tim za primenu rezultata, kao i za nova istraživanja.

Svojom koncepcijom i odabirom radova „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ prate napredak u oblasti molekularne biologije i ne samo da prenose najznačajnije naučne rezultate, već i inspirišu i podstiču nova istraživanja i šire interesovanje za ovu veoma značajnu naučnu oblast. Ovaj zbornik opravdava svoj naziv i nadam se da će se nastaviti trend njegovog objavljivanja i narednih godina.

**Dr Svetlana Radović, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu**

Monografija/Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ je drugi broj u nizu izdanja koje ima za cilj da prikaže naučne rezultate iz oblasti molekularne biologije koje su ostvarili naučnici iz Srbije u prethodnoj godini. Sačinjen je od 18 poglavlja, od kojih 8 predstavlja revijske radove proizašle iz doktorskih disertacija mladih doktora nauka u kojima je prikazan njihov doprinos određenoj naučnoj oblasti molekularne biologije koja je povezana sa temom njihove disertacije. Preostalih 7 poglavlja su prikazi aktuelnih tema iz molekularne biologije u kojima su naši naučnici dali svoj značajni doprinos. Uvodno poglavlje je posvećeno jubileju, pedesetogodišnjici Beogradske škole molekularne biologije, u kome je prikazan put razvoja programa za molekularnu biologiju na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Veliki broj poglavlja iz Zbornika (12) je posvećen istraživanjima iz oblasti biomedicine. Posebno je značajno poglavlje u kome je prikazan doprinos naših istraživača u oblasti kojoj je dodeljena Nobelova nagrada iz medicine za 2021. godinu (receptori za temperaturu i dodir).

Doprinos koji je molekularna biologija dala modernoj medicini je izuzetno veliki. Danas su u kliničkoj praksi u svetu mnogobrojni dijagnostički, prognostički i terapijskih molekularni markeri. Posebno je značajno što je medicina u Srbiji pratila svetske trendove, i to zahvaljujući i velikim naporima molekularnih biologa u našoj zemlji. Ovaj Tematski zbornik je svedočanstvo o značajnim postignućima molekularnih biologa u Srbiji koji su doneli napredak našoj medicini i drugim naučnim oblastima.

Monografija/Zbornik je izuzetno zanimljivo koncipiran sa sadržajem koji je na visokom naučnom nivou i koje je značajan izvor informacija za veliki broj naučnika u Srbiji čija se istraživanja više ne mogu zamisliti bez molekularne biologije. Primeri primenljivosti rezultata istraživanja u praksi (medicinskoj i drugima) je poseban kvalitet ovog Zbornika.

Prvi broj Tematskog zbornika „Trendovi u molekularnoj biologiji 1“ je doživeo veliko interesovanje. Interesovanje autora da objave svoj doprinos svetskoj nauci u broju 2 govori da je ovakav sadržaj bio neophodan našoj naučnoj javnosti. Sigurno je da će ovako koncipiran Tematski zbornik imati budućnost, jer je napredak medicine i drugih oblasti (biotehnologija, poljoprivreda, farmacija) nemoguće zamisliti bez novih dostignuća molekularne biologije

**Dr Vesna Škodrić Trifunović, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu**

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ sadrži naučne rezultate koji su prepoznati na svetskom nivou, a koje su istraživači iz Srbije ostvarili u prethodnoj godini iz ove oblasti. Zbornik je sačinjen od 18 poglavlja, preglednih radova, grupisanih u pet celina. Prva celina je posvećena važnom jubileju, pedesetogodišnjici osnivanja Beogradske škole molekularne biologije na Biološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, dok druga sadrži prikaz rezultata naših istraživača iz oblasti fiziologije i medicine za koju je u 2021. godini dodeljena Nobelova nagrada. Najveći broj poglavlja je u okviru treće celine koja se bavi biomedicinom i to molekularnom biologijom retkih bolesti, tumora i centralnog nervnog sistema. Preostale dve celine su posvećene molekularnoj biologiji biljaka i naprednim metodama molekularne biologije. Važno je istaći da su mladi doktori nauka aktivno učestvovali u izradi ovog Zbornika, tako da 8 poglavlja u okviru biomedicine i molekularne biologije biljaka predstavljaju revijske radove proizašle iz njihovih doktorskih disertacija.

Značaj ovog Zbornika je višestruk. Najpre, već drugu godinu za redom se objavljuju najrelevantnija saznanja iz navedenih oblasti koja su proizašla iz rada istraživača iz Srbije i dostupna su široj javnosti na maternjem jeziku. Takođe, svoje radove su napisali istraživači iz različitih naučnih instituta (5) i fakulteta (5) iz Srbije, što ohrabruje da će se u našoj zemlji i dalje nastaviti sa istraživanjima u molekularnoj biologiji koja su aktuelna u svetu.

„Trendovi u molekularnoj biologiji 2“ je Tematski zbornik u kome su objedinjeni rezultati fundamentalnih i primenjenih istraživanja u molekularnoj biologiji ostvarenih u našoj zemlji u prethodnoj godini. Korišćenjem najnovijih metodoloških pristupa u ovoj oblasti, ali i bioinformatičkih i drugih softverskih alata, postignut je značajan napredak u dijagnozi i primeni novih strategija lečenja mnogih bolesti, forenzičkim analizama, razvoju novih lekova. Ovaj sveobuhvatni prikaz istraživanja, koja se aktivno sprovode u naučnim institutima i na fakultetima u Srbiji, doprinosi saznanjima o značaju koji molekularna biologija ima kako u humanoj i veterinarskoj medicini, poljoprivredi, farmaciji, tako i u razvoju biotehnologije, očuvanju životne sredine i biodiverziteta.

Poseban doprinos Zbornika se ogleda u tome što se u njemu nalaze aktuelni podaci o dostupnosti navedenih savremenih metodologija, čime se otvaraju realne mogućnosti za uspostavljanje novih saradnji među istraživačima, kao i u uspostavljanju inter- i multi-disciplinarnosti i daljem razvoju nauke u Srbiji.

Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu

Ekspresija i funkcija insulina u centralnom nervnom sistemu

Tamara Dakić, Predrag Vujović

Katedra za uporednu fiziologiju i ekofiziologiju, Institut za fiziologiju i biohemiju "Ivan Đaja", Univerzitet u Beogradu – Biološki fakultet

Kontakt: tamara.dakic@bio.bg.ac.rs

Apstrakt

Nakon njegovog otkrića početkom dvadesetog veka, dugo je smatrano da se insulin isključivo sintetise u pankreasu i da u centralni nervni sistem (CNS) dospeva prolaskom kroz krvno-moždanu barijeru. Međutim, razvojem molekularno-bioloških metoda potvrđeno je prisustvo iRNK za preproinsulin, samog (prepro)insulina, kao i C-peptida u nekim regionima mozga. Time je višestruko potvrđeno da se insulin, osim u pankreasu, sintetise i u CNS. Nakon otkrića da se i receptor za insulin eksprimira u CNS, ispitivanja su bila usmerena ka upoznavanju dejstva ovog hormona u mozgu. Pokazano je da je, između ostalog, uključen u kontrolu apetita, regulaciji reprodukcije, ali i procesa vezanih za učenje i konsolidaciju memorije. Takođe je utvrđeno da su poremećaji dejstva insulina u CNS povezani sa razvojem nekih neurodegenerativnih bolesti.

Iako je većina pomenutih efekata prvobitno pripisana insulinu koji iz sistemske cirkulacije dospeva u CNS, sve više se dizajniraju studije koje su orijentisane isključivo ka upoznavaju funkcije insulina koji nastaje u mozgu. Do sada je pokazano da se produkcija insulina u hipotalamusu smanjuje tokom stresnih situacija, što se negativno odražava na sintezu hormona rasta u adenohipofizi i njegovu sekreciju u sistemske cirkulaciju. Nasuprot tome, pokazano je da kratkotrajno gladovanje povećava ekspresiju insulina u neuronima istog moždanog regiona ali i da ovaj fenomen nije povezan sa povećanjem stope ugradnje glukoza transportera u ćelijsku membranu, niti sinteze glikogena u astrocitima. Biće potrebno sprovesti dodatne studije kako bi se u većoj meri upoznala uloga insulina koji nastaje unutar CNS.

Ključne reči: insulin, centralni nervni sistem, gladovanje, insulinska signalizacija, hipotalamus

Insulin expression and action in the central nervous system

Tamara Dakić and Predrag Vujović

Department for Comparative Physiology and Ecophysiology, Institute of Physiology and Biochemistry "Ivan Đaja", University of Belgrade - Faculty of Biology

Correspondence: tamara.dakic@bio.bg.ac.rs

Abstract

After being discovered in the early twentieth century, insulin was long considered to be exclusively produced in the β -pancreatic cells. Therefore the presence of this hormone in the central nervous system (CNS) was accounted for solely by its transport across the blood-brain barrier. However, owing to the advances in molecular biological techniques, it was established that the preproinsulin mRNA, the (pre)proinsulin peptide and C-peptide were also present in the CNS parenchyma. These findings unequivocally proved that, in addition to the pancreas, insulin was also produced in the CNS. After discovery that the insulin receptor was also expressed in the brain, numerous studies aimed to discover the insulin actions within the CNS. It was found that insulin was involved in the control of appetite, reproduction, learning and memory consolidation. Moreover, it was confirmed that the impairment of insulin signaling within the certain brain regions was associated with various neurodegenerative disorders. Although these effects were initially assigned to the action of the insulin transported from the circulation into the CNS, more studies were designed to uncover the roles of insulin produced in the CNS. It has been shown so far that stress decreases hypothalamic insulin production which subsequently results in the decreased growth hormone production and its secretion from adenohypophysis. Furthermore, short-term fasting increased hypothalamic insulin expression in rats, albeit this phenomenon did not result in either increased glucose uptake nor glycogen production in this brain region. More studies are needed to fully elucidate the role of the centrally produced insulin.

Keywords: insulin, central nervous system, fasting, insulin signaling, hypothalamus

Uvod

Insulin je polipeptidni hormon koji se sintetisuje u β -ćelijama Langerhansovih ostrvaca pankreasa. Otkrili su ga Banting i Best 1922. godine [1] koji su na pankreaektomisanim psima pokazali da intravenozna administracija ekstrakta pankreasa snižava koncentraciju glukoze u krvi i urinu [1,2]. Oni su u svojim beleškama ovaj ekstrakt nazvali „isletin“ [2]. Postojanje supstance poreklom iz pankreasa koja snižava koncentraciju glukoze u krvi pretpostavljeno je mnogo godina ranije, a ime „insulin“ (latinski: *insula*, ostrvo), koje su kasnije prihvatili i Banting i Best, predložio je Jean de Meyer 1909. godine, a nezavisno i engleski fiziolog Edward Albert Sharpey-Schafer 1910. godine [2,3].

Nakon otkrića insulina, prvobitna istraživanja bila su uglavnom usmerena ka njegovoj primeni u lečenju dijabetesa, ali vremenom se proširivalo i znanje o njegovoj strukturi i dejstvima. Osnovna funkcija insulina je regulacija perifernog glukoznog metabolizma. Insulin stimuliše skeletne mišiće i masno tkivo da preuzimaju glukozu iz krvne plazme i stimuliše sintezu glikogena, proteina i masti u ćelijama jetre, mišića i masnog tkiva. Pored toga, regulaciju perifernog glukoznog metabolizma insulin vrši i posredno, delujući na odgovarajuće centre u hipotalamusu čime suprimira apetit i glukoneogenezu u jetri, odnosno, reguliše energetska homeostazu. Danas znamo da insulin ostvaruje i brojne druge uloge u centralnom nervnom sistemu (CNS), kao što su regulacija reprodukcije, učenja i formiranje memorije, a poremećaji dejstva insulina u CNS povezani su sa razvojem nekih neurodegenerativnih poremećaja, kao što je Alchajmerova bolest.

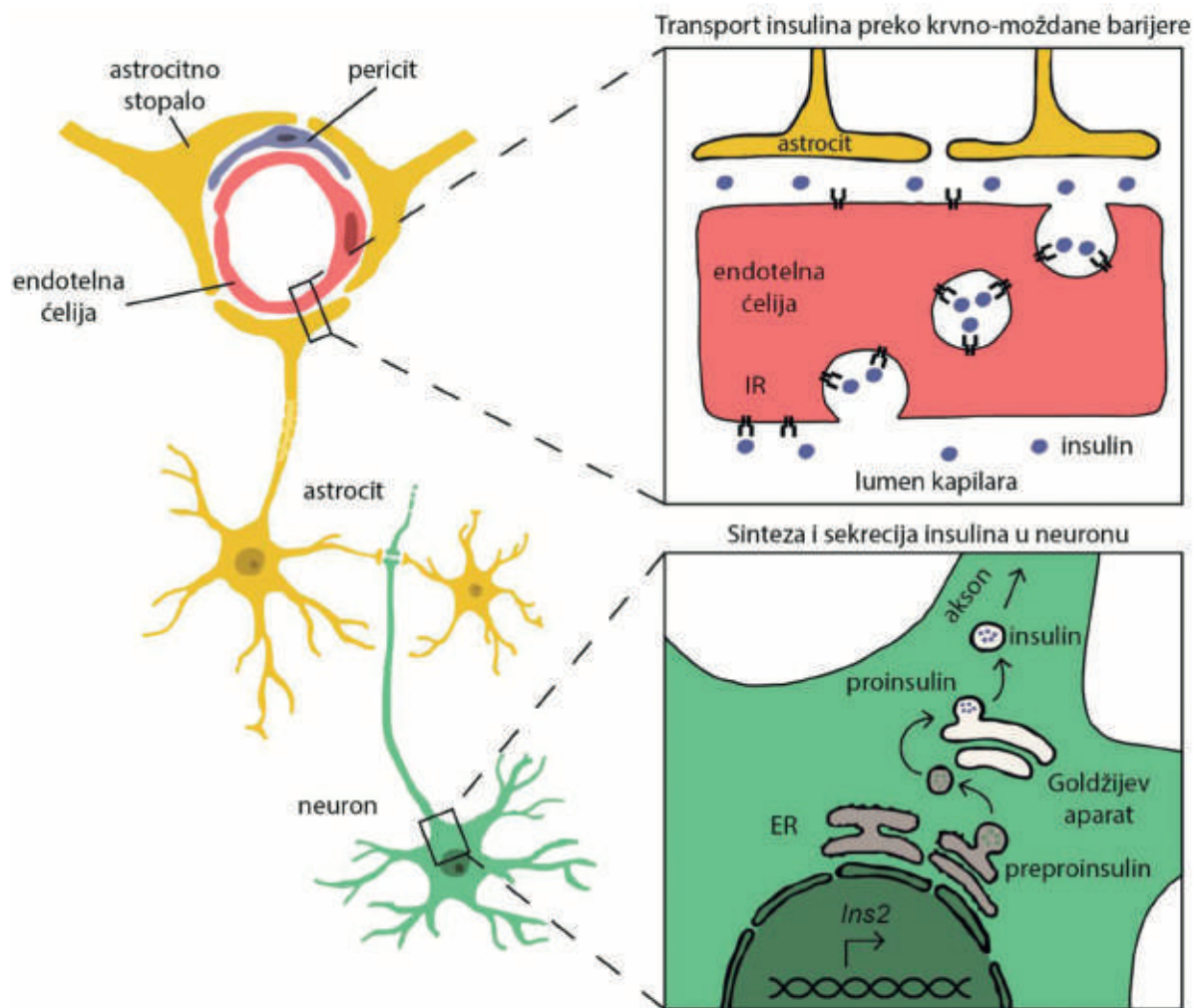
Kontrola sinteze i sekrecije insulina

Insulin se, kao i svi polipeptidni hormoni, sintetisuje u formi neaktivnog preprohormona, koji se naziva preproinsulin i izgrađen je od 110 amino-kiselina. U endoplazmatičnom retikulumu se sa preproinsulina iseca signalna sekvenca usled čega nastaje proinsulin. Potom se formiraju i tri disulfidne veze, koje molekulu proinsulina daju karakterističnu konformaciju. Nakon toga u Goldžijevom aparatu proinsulin se pakuje u vezikule, a unutar njih se delovanjem enzima prohormon konvertaze iseca središnji deo molekula, tzv. C-peptid, čime nastaje nastaje „zreli“ insulin sastavljen od 51 amino-kiselinskog ostatka. Nakon stimulacije β -ćelija pankreasa, egzocitozom se insulin i C-peptid sekretuju u sistemsku cirkulaciju. Glavni stimulus za sintezu i sekreciju insulina je povišena koncentracija glukoze u krvi, ali i drugi faktori mogu uticati na njegovu sekreciju. Povećana koncentracija amino-kiselina i akutno povećanje koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi nakon obroka stimulišu oslobađanje ovog hormona. Takođe, gastrointestinalni hormoni, glukagonu sličan peptid-1 (GLP-1) i glukozno-zavistan insulinotropni polipeptid (GIP), tzv. inkretini, značajno povećavaju sekreciju insulina. Nasuprot tome, tokom stresnih situacija ili povećane fizičke aktivnosti, usled povećane simpatičke stimulacije srži nadbubrežnih žlezda povećava se sekrecija adrenalina koji inhibira izlučivanje insulina. Takođe, δ -ćelije pankreasa sekretuju somatostatin koji deluje parakrino i suprimira sekreciju insulina (detaljnije opisano u [4]).

Poreklo insulina u centralnom nervnom sistemu

Prvobitno je smatrano da insulin svoje efekte ostvaruje isključivo na periferna tkiva i da je CNS neosetljiv na dejstvo insulina. Međutim, u eksperimentu koji su izveli Margolis i Altszuler 1967. godine na psima (koji su prethodno podvrgnuti 18-20 časovnom gladovanju) pokazano je da se nakon intravenozne administracije insulina njegova koncentracija u cerebrospinalnoj tečnosti (CST) povećava [5]. U ovoj studiji prvi put je demonstrirano da insulin prolazi kroz krvno-moždanu barijeru (KMB). Pored toga, ustanovljeno je da koncentracija insulina u CST ne raste proporcionalno porastu koncentracije insulina u krvi, ukazujući na to da se njegov transport kroz KMB ne odvija pasivnom difuzijom, već da postoji transportni sistem koji podleže

saturaciji [5]. Baura i saradnici su na psima potvrdili da pri suprafiziološkim koncentracijama insulina u krvi (i pri veštački održavanoj euglikemiji), transport insulina kroz KMB dostiže plato [6], dok su Banks i saradnici na miševima pokazali je doza insulina potrebna za saturaciju niža od doze koja izaziva hipoglikemiju [7]. Prisustvo insulina u CST detektovano je i kod drugih vrsta, uključujući pacova, zeca, majmuna i čoveka [8]. Kasnije je utvrđeno da se insulin transportuje kroz KMB receptor-posredovanom transcitozom (Slika 1) [9]. Naime, endotelne ćelije kapilara koji ulaze u sastav KMB, kao i endodimske ćelije poseduju insulinske receptore (IR) koji učestvuju u njegovom transportu iz krvne plazme u CNS. Insulin se vezuje za IR na luminalnom regionu membrane endotelne ćelije, nastali kompleks se internalizuje, nakon čega se insulin otpušta sa antiluminalne strane u intersticijum uz minimalnu degradaciju [8–11]. U kulturi endotelne ćelije izolovanih iz krvnih sudova mozga pokazano je da je u pitanju dvosmerni transport, posredovan IR i lipidnim rafatom koji ne uključuje aktivaciju fosfatidilinozitol-3 kinaze (eng. *phosphoinositide-3-kinase* - PI3K) i ekstraćelijskim signalima regulisane kinaze (eng. *extracellular signal-regulated kinase* - ERK) [11].



Slika 1. Insulin u centralnom nervnom sistemu. Insulin sintetisan u pankreasu se izlučuje u sistemsku cirkulaciju iz koje se transportuje preko krvno-moždane barijere receptor-posredovanom transcitozom. Pored toga, insulin se sintetiše u neuronima. IR – insulinski receptor; ER – endoplazmatični retikulum.

KMB u različitim moždanim regionima ima različitu propustljivost za insulin. Najpermeabilniji regioni su u sklopu moždanog mosta, produžene moždine i hipotalamusa (posebno eminencija medijana), manje permeabilan je potiljačni region moždane kore, dok se talamus i srednji mozak smatraju nepropustljivim za insulin [12]. Stopa transporta insulina kroz KMB smanjuje se sa starenjem organizma, usled gojaznosti, kao i u slučaju nekih neurodegenerativnih oboljenja ako što je Alchajmerove bolesti [13]. Takođe, na smanjenje stope transporta utiče i ishrana bogata mastima [11], kortikosteroidi [14] i gladovanje [15].

Krajem sedamdesetih godina pojavila su se istaživanja u kojima je insulin detektovan ne samo u CST već i u parenhimu moždanog tkiva i tada se javila ideja o njegovoj sintezi u CNS. Prva studija, urađena 1978. godine od strane Havrankove i saradnika pokazala je prisustvo insulina u različitim moždanim regionima *ad libitum* hranjenih Sprague-Dawley pacova [16]. S obzirom da su izmerene koncentracije insulina u mozgu bile veće nego u cirkulaciji, autori ove studije su pretpostavili da dolazi do sinteze insulina u CNS [16]. Svoju hipotezu dodatno su potvrdili kada su na gojaznim i dijabetičnim pacovima pokazali da koncentracija insulina u mozgu ne zavisi od njegove koncentracije na periferiji [17]. Naime, uprkos hipoinsulinemiji kod pacova kojima je dijabetes izazvan streptozotocinom ili hiperinsulinemije kod gojaznih pacova, nisu zabeležene promene koncentracije insulina u mozgu [17].

Dorn i saradnici su potvrdili prisustvo insulina u mozgu Wistar pacova [18,19], ali u znatno manjoj količini nego u mozgu C57BlksJ miševa [19]. Objašnjenje razlike u količini insulina detektovanog u mozgu pacova u ovoj i studiji koju je izvela Havrankova, možda leži u tome što je analiza rađena na različitim sojevima. Međutim, u druge dve studije rađene na Sprague-Dawley [20] i Wistar [21] pacovima zabeležena je niska koncentracija insulina u mozgu, značajno manja nego u plazmi [20,21]. Različite koncentracije insulina u opisanim studijama mogu biti posledica korišćenja različitih metoda za merenje. Osim kod pacova, insulin je detektovan i u mozgu kornjače, žabe i čoveka gde je pokazano da među vrstama postoji razlika u njegovoj količini [22]. Kod glodara, najveća koncentracija insulina detektovana je u hipotalamusu [16,19,21] i olfaktornim bulbusima [16,21].

Ideja o sintezi insulina u CNS bila je dugo osporavana zbog činjenice da je njegovo prisustvo detektovano radioimunološkim i imunohistohemijskim metodama, odnosno, na nivou proteina [16,17], ili zbog detekcije veoma niskih koncentracija ovog hormona [20,21]. Njegovo prisustvo u endotelnim ćelijama krvnih sudova i ependimskim ćelijama koje okružuju moždane komore inicijalno je pripisivano transportu iz krvi ili CST [23]. Baskin i saradnici su injecirali radioaktivno obeleženi insulin u lateralne moždane komore i zabeležili njegovo preuzimanje u hipotalamusu, najpre u ependimskim ćelijama, a nakon 30 minuta i u periventrikularnom (PeV) jedru, eminenciji medijani i dorzomedijalnom hipotalamusu [24], dodatno ukazujući na činjenicu da je prisustvo insulina u hipotalamusu posledica njegovog transporta iz CST [21,24].

Međutim, prisustvo insulina u citoplazmi ćelijskih tela i dendrita ukazivalo je na mogućnost njegove sinteze u ovim ćelijama [25,26]. Pored toga, u prilog ideji o produkciji insulina u CNS išla su i istraživanja koja su pokazala prisustvo C-peptida u istim nervnim ćelijama u kojima je detektovan i insulin [25,26]. C-peptid, kao sastavni deo proinsulina, skladišti se i sekretuje zajedno sa insulinom i stoga predstavlja marker njegove biosinteze [25,27]. Takođe, dodatna potvrda da se sinteza insulina odvija u nervnim ćelijama bila su i istraživanja u kojima je prisustvo insulina pokazano u kulturi moždanih ćelija pacova [28,29] i miša [30]. Dodatno je demonstrirano i da u kulturi neurona sekrecija insulina može biti indukovana hemijskom depolarizacijom ćelijske membrane [31].

Prvobitno iRNK za insulin nije bila detektovana u mozgu adultnih Sprague-Dawley pacova *Northern blot* metodom [32]. Međutim, nekoliko godina kasnije Young je uspeo primenom *in situ* hibridizacije da detektuje iRNK za insulin u mozgu na istom animalnom modelu [33]. Kasnije je prisustvo iRNK za preproinsu-

lin 1 i 2 detektovano i u mozgu embriona miša i pacova [34], ali i prisustvo iRNK za insulin 2 u neonatalnom i adultnom moždanom tkivu pacova [35]. Pacovi i miševi imaju dva gena za insulin: *Ins1* koji se eksprimira u β -ćelijama pankreasa i *Ins2* koji je prisutan i u ostalim tkivima [34,36]. Razvojem molekularno-bioloških metoda, nizale su se studije koje su potvrđivale ekspresiju insulina u CNS. Do danas, insulin je detektovan na nivou proteina (imunohistohemijskim, RIA ili HPLC metodama) u moždanom tkivu [16–19,22,25,37–44] i kulturi nervnih ćelija [28–31,45,46], na nivou iRNK (*Northern blot*, *RT-PCR*, *real-time RT-qPCR*, *in situ* hibridizacija) [33–36,38,47–52], a pokazana je aktivnost promotora *Ins2* gena karakterističnih za β -ćelije pankreasa u mozgu miševa [53,54] i pacova [55]. Ekspresija insulina zabeležena je u različitim moždanim regionima kao što su hipotalamus [38,47], korteks velikog mozga [36], hipokampus [36,51] i olfaktorni bulbusi [51]. U okviru hipotalamusa insulin je detektovan u neuronima periventrikularnog [33,38] i paraventrikularnog jedra (PVN) [47]. Prisustvo insulina zabeleženo je u neuronima, ali ne i u glijskim ćelijama [38,45,47]. Pored toga, insulin je prisutan i u endimskim ćelijama koje okružuju moždane komore [23,38,47], tanicitama [23], ćelijama horoidnog plexusa [52] i endotelnim ćelijama krvnih sudova. Sve navedene studije potvrđuju postojanje *de novo* sinteze insulina u CNS, ali njegova uloga je idalje slabo istražena.

Funkcije insulina u centralnom nervnom sistemu

Nakon otkrića insulinskog receptora u mozgu [56], došlo je do ekspanzije studija koje analiziraju funkciju insulina u CNS. Objavljen je veliki broj radova u kojima je insulin injeciran intravenozno (iv) ili intracerebroventrikularno (icv) kako bi se saznalo koje efekte ostvaruje u CNS. Veliki doprinos u razumevanju dejstva insulina u mozgu dale su i mnogobrojne novije studije u kojima je administracija insulina obavljena intranazalno.

Najviše ispitivana uloga insulina je regulacija apetita. Pokazano je da injeciranje insulina u moždane komore dovodi do smanjenja unosa hrane i posledično do smanjenja telesne mase [57,58]. Insulin svoje anoreksigeno dejstvo ostvaruje preko svojih receptora u hipotalamusu, gde inhibira NPY/AgRP neurone [59,60], dok POMC/CART neurone aktivira [61]. U neuronima hipotalamusa koji koekspimiraju IR i POMC zabeleženo da icv administracija insulina dovodi do povećanja ekspresije iRNK za POMC, a da primena antagonista melanokortina može sprečiti anoreksigene efekte insulina. Ovo ukazuje da insulin svoja dejstva ostvaruje preko melanokortinskog sistema [62]. Sa druge strane, selektivna delecija IR u neuronima ima oreksigene efekte, odnosno dovodi do hiperfagije, gojaznosti i insulinske rezistencije perifernih efektor insulina [63].

Pored regulacije apetita, insulin vezivanjem za svoje receptore u hipotalamusu suprimira glukoneogenezu u jetri [64] i moduliše nivo simpatičke stimulacije masnog tkiva. Drugim rečima, svojim dejstvom u hipotalamusu insulin indirektno inhibira lipolizu i promovise lipogenezu, čime se ujedno smanjuje i dostupnost supstrata za glukoneogenezu u jetri, čime se dodatno suprimira hepatična produkcija glukoze [65,66]. Regulacijom energetske homeostaze insulin indirektno utiče i na reprodukciju koja je energetski izuzetno zahtevan proces [13]. Kod ženki miševa delecija IR u neuronima pored pojave gojaznosti, remeti sekreciju luteinizirajućeg hormona i smanjuje fertilitnost [67,68].

Činjenica da pacijenti sa dijabetesom tip 1 i 2 imaju poteškoće sa učenjem, oslabljenu memoriju i kognitivne funkcije ukazuje na potencijalnu ulogu insulina u ovim procesima. U prilog ovoj hipotezi ide i činjenica da je veliki broj IR detektovan u hipokampusu, moždanoj strukturi koja ima ulogu u procesima učenja i pamćenja [13,69]. Pored toga, kod Alchajmerove bolesti narušena je aktivnost insulina u mozgu, a njegova intranazalna administracija poboljšava kognitivne performanse, pažnju i pamćenje kod pacijenata sa ovom bolesti [69]. Mehanizam kojim insulin utiče na memoriju može biti posredno preko regulacije preuzimanja glukoze koja je neuronima naophodna za ove energetske zahtevne procese [13]. Zaista, pokazano je da in-

sulin u hipokampusu stimuliše translokaciju GLUT4 u ćelijsku membranu i povećava preuzimanje glukoze [70]. Sa druge strane, insulin moduliše sinaptičku aktivnost i na taj način utiče na procese formiranja memorije [13].

Iako je veliki broj studija ispitivao dejstvo periferno sintetisanog ili egzogenog insulina u CNS, malobrojne su one koje su ispitivale isključivo funkciju insulina sintetisanog u mozgu. Postoji više razloga za to. Jedan od njih je što su dugo vođene debate oko porekla insulina u CNS. Osim toga, iako je njegova ekspresija u CNS potvrđena na više načina, u vidu iRNK, proteina insulina, C-peptida, količina insulina koji se sintetise u mozgu je mala. Na kraju, teško je razdvojiti efekte periferno sintetisanog insulina koji kroz KMB dospeva u CNS i insulina sintetisanog u CNS.

Kada se sve uzme u obzir, jasno je da je bilo teško dizajnirati studiju u kojoj bi se mogla proučiti funkcija isključivo insulina sintetisanog u mozgu. Kako bi se eliminisali efekti periferno sintetisanog insulina, prva istraživanja funkcije moždanog insulina vršena su *in vitro*. U kulturi neurona fetusa pacova, gajenih u medijumu koji ne sadrži insulin, pokazano je da oni sintetisu iRNK za preproinsulin 1 i preproinsulin 2 i da endogeno sintetisani insulin promovise distribuciju neurofilamenata u aksonu i rast neurita [71] i diferencijaciju neurona [72]. Ovi procesi posredovani su aktivacijom MAPK, ali ne i PI3K/AKT signalnog puta [71,73].

Iako su ove studije omogućile razumevanje nekih procesa u koje je endogeno sintetisani insulin uključen, ovakav pristup ima određenih nedostataka i ne daje potpuni odgovor na pitanje koja je funkcija insulina sintetisanog u mozgu. Zahvaljujući razvoju molekularno-bioloških metoda, a posebno zahvaljujući razvoju mišjeg modela u kojem je deletiran gen *Ins2* u mozgu, pojavile su se studije koje su dodatno potvrdile *de novo* sintezu insulina u mozgu, ali i omogućile ispitivanje njegove uloge [47]. Potvrđeno je da se u mozgu eksprimira samo *Ins2* iRNK, i to u malim količinama, ali značajno većim od pozadinskog šuma zabeleženog kod *Ins2^{-/-}* miševa [36].

S obzirom da je količina insulina koji se sintetise u mozgu mala, miševi sa delecijom *Ins2* u fiziološkim uslovima ne ispoljavaju značajne patološke promene koje bi mogle ukazati na funkciju ovog molekula [36,74]. Na osnovu toga može se pretpostaviti da je uloga insulina produkovanog u mozgu u nekim finim modulacijama aktivnosti CNS i lokalnog karaktera, te da se nedostatak *Ins2* može primetiti tek u slučajevima narušene homeostaze. Upravo u takvim uslovima, nakon izlaganja stresu, Lee i saradnici su ustanovili da insulin sintetisan u PVN hipotalmusa igra važnu ulogu u regulaciji sinteze i sekrecije hormona rasta (HR) [47]. U normalnim fiziološkim uslovima, u parvoćelularnim neuronima PVN sintetise se insulin koji aksonalnim transportom dospeva do eminencije medijane, gde se sekretuje u hipotalamo-hipofizni portni krvotok kojim se transportuje do svojih receptora na membrani ćelija adenohipofize u kojima posredstvom PI3K/AKT signalnog puta regulise sintezu i sekreciju HR [47]. Međutim, smanjenje ekspresije *Ins2* iRNK u PVN tokom stresa dovodi do smanjenja iRNK za HR u adenohipofizi, i sledstvenog smanjenja koncentracije ovog hormona u krvnoj plazmi [47]. Kod juvenilnih miševa, u uslovima hroničnog stresa, supresija sinteze insulina u PVN dovodi do usporavanja rasta zbog smanjene proizvodnje HR [47].

U našoj studiji je, u stanju narušene energetske homeostaze uzrokovane šestočasovnim gladovanjem (nakon prekonocnog gladovanja) zabeleženo povećanje ekspresije insulina u PeV hipotalmusa mužjaka pacova [38]. Povećanje ekspresije insulina detektovano je ne samo RIA metodom i imunohistohemijski (pomoću antitela za proinsulin), već i primenom *RT-qPCR* [38]. S obzirom na poznato anoreksigeno dejstvo insulina, očekivano je da tokom gladovanja dođe do smanjenja njegove koncentracije i u krvi i u hipotalamusu, što se dešava u slučaju dugotrajnijeg gladovanja, ali ne i šestočasovnog [75]. Ovo neočekivano saznanje nametnulo je pitanje adaptivnog značaja gladovanjem izazvanog povećanja ekspresije insulina u PeV.

S obzirom na to da gladovanje predstavlja stanje narušene energetske homeostaze, najpre je ispitivana uloga ovog insulina u regulaciji glukoznog metabolizma [76]. Iako se smatra da je glukozni metabolizam u mozgu nezavisan od dejstva insulina [77], prisustvo dve insulin-zavisne forme glukoznih transportera: GLUT4 i GLUT8 [78] i njihova kolokalizacija sa IR [79] ukazuju da insulin može uticati na glukozni metabolizam u CNS. Zaista, nakon icv administracije, insulin u neuronima hipokampusa stimuliše translokaciju GLUT4 iz citoplazme u ćelijsku membranu posredstvom PI3K/AKT signalnog puta [70]. Pored toga, osetljivost glukoznih transportera na insulin može se menjati u određenim okolnostima. Na primer, tokom mirovanja insulin stimuliše translokaciju GLUT4, dok se tokom povećane fizičke aktivnosti njegova ugradnja u ćelijsku membranu skleteno-mišićnih ćelija odvija nezavisno od dejstva insulina [80]. Nakon šestočasovnog gladovanja, pored povećanja ekspresije insulina, u PeV je zabeležena i aktivacija IR [76], što ukazuje da centralno sintetisani insulin svoje dejstvo u ovom slučaju ostvaruje parakrino. Međutim, u PeV nije zabeležena koekspresija aktivne forme IR ni sa jednim od četiri najzastupljenije izoforme glukoznih transportera (GLUT1, 2, 3, i 4) u mozgu [76]. To dalje ukazuje da insulin produkovan u PeV tokom kratkotrajnog gladovanja nema ulogu u kontroli membranskog transporta glukoze u hipotalmusu.

Insulin je poznat i po svojoj ulozi u stimulaciji sinteze glikogena [81,82], koji i u mozgu predstavlja važan izvor energije, a sintetiše se i skladišti isključivo u astrocitima [83]. Iako je pokazano da insulin u moždanim ćelijama stimuliše sintezu glikogena i *in vitro* [84] i *in vivo* [85], nakon kratkotrajnog gladovanja u hipotalamusu nisu zabeležene ni promene u količini niti u regionalnoj distribuciji glikogena [76], na osnovu čega je zaključeno da insulin sintetisan u ovom moždanom regionu tokom kratkotrajnog gladovanja nema ulogu u sintezi glikogena.

U skladu sa ovim rezultatima, pokazano je da u hipotalamusu kratkotrajno izgladnjivanih pacova ne dolazi do aktivacije PI3K/AKT signalnog puta za koji se zna da indukuje preuzimanje glukoze i sintezu glikogena [86]. Šta više, fosforilacija AKT na serinu 473 bila je smanjena, kao i u drugim studijama koje su ispitivale uticaj gladovanja na insulinski signalni put [87,88], ukazujući i da se modulacija AKT tokom gladovanja vrši posredstvom nekih drugih molekula. Sa druge strane, šestočasovno gladovanje u hipotalamusu povećava aktivaciju ERK [86], za koji je pokazano da u mozgu moduliše ekspresiju gena uključenih u sinaptičku plastičnost i ćelijsku diferencijaciju [71,73,89], te se može pretpostaviti da *de novo* sintetisan insulin ima ulogu u nekom od ovih procesa. Uzimajući u obzir da se fenomen povećanja ekspresije insulina u PeV tokom kratkotrajnog gladovanja dešava kod mužjaka [38] ali ne i kod ženki (nepublikovani podaci) i da je u literaturi poznato da postoje polno-specifične razlike u građi i funkciji ovog jedra [90,91], može se pretpostaviti i da je njegova uloga možda u modulaciji reproduktivne funkcije. Međutim, za potpuno razumevanje funkcije centralno produkovanog insulina tokom kratkotrajnog gladovanja, u budućnosti bi bilo potrebno uraditi dodatne analize na životinjama kojima je *Ins2* gen u neuronima PeV deletiran i analizirati signalne molekule nishodno od ERK.

Zaključak

Od otkrića insulina do danas napravljen je veliki iskorak prvenstveno u upoznavanju faktora koji kontrolišu njegovu sintezu i sekreciju iz β -ćelija pankreasa. Detaljno su okarakterisani i tkivni odgovori koje insulin pokreće u skeletnim mišićima, masnom tkivu i jetri, kao i signalni putevi koje ovaj hormon vezivanjem za svoj receptor aktivira u pomenutim efektorima. Osim toga, opisan je i mehanizam transporta insulina kroz krvno-moždanu barijeru. Razvojem molekularno-bioloških metoda u poslednjih nekoliko decenija nedvosmisleno je potvrđeno da se sinteza insulina, osim u pankreasu, odvija i u CNS. Identifikovani su regioni mozga, kao i tipovi ćelija u kojima se eksprimira gen za insulin. Međutim, ono što ostaje predmet intenzi-

vnih istraživanja jeste adaptivni značaj sinteze insulina u CNS. Neophodno je ispitati da li je reč o procesu koji se dešava konstitutivno ili samo pod specifičnim okolnostima. Naročito je važno detaljnije upoznati ulogu insulina u CNS, kao i razdvojiti dejstva insulina koji u mozak dospeva kroz krvno-moždanu barijeru, od onog koji je lokalno sintetisan u CNS.

Zahvalnica

Izrada ovog rada je omogućena zahvaljujući Ministarstvu prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije – broj ugovora 451-03-9/2021-14/200178.

Literatura

1. Banting FG, Best CH. The internal secretion of the pancreas. *J Lab Clin Med.* 1922;7. doi:10.3138/9781442656918-008
2. Diem P. The Discovery of Insulin. *Ther Umschau.* 2020;77: 289–296. doi:10.1024/0040-5930/a001194
3. Vecchio I, Tornali C, Bragazzi NL, Martini M. The discovery of insulin: An important milestone in the history of medicine. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9: 1–8. doi:10.3389/fendo.2018.00613
4. Dakić T. Efekat kratkotrajnog gladovanja na ekspresiju insulina i insulinsku signalizaciju u hipotalamusu pacova. Institut za fiziologiju i biohemiju “Ivan Đaja”, Univerzitet u Beogradu - Biološki fakultet. 2019.
5. Margolis RU, Altszuler N. Insulin in the Cerebrospinal Fluid. *Nature.* 1967;215: 1375. doi:10.1038/2151375a0
6. Baura GD, Foster DM, Porte D, Kahn SE, Bergman RN, Cobelli C, et al. Saturable transport of insulin from plasma into the central nervous system of dogs in vivo. A mechanism for regulated insulin delivery to the brain. *J Clin Invest.* 1993;92: 1824–1830. doi:10.1172/JCI116773
7. Banks WA, Jaspan JB, Huang W, Kastin AJ. Transport of insulin across the blood-brain barrier: Saturability at euglycemic doses of insulin. *Peptides.* 1997. doi:10.1016/S0196-9781(97)00231-3
8. Plata-Salamán CR. Insulin in the cerebrospinal fluid. *Neurosci Biobehav Rev.* 1991;15: 243–258. doi:10.1016/S0149-7634(05)80004-1
9. King GL, Johnson SM. Receptor-Mediated Transport of Insulin Across Endothelial Cells. *Science (80-).* 1985;227: 1583–1586.
10. Meijer RI, Gray SM, Aylor KW, Barrett EJ. Pathways for insulin access to the brain: The role of the microvascular endothelial cell. *Am J Physiol - Hear Circ Physiol.* 2016;311. doi:10.1152/ajpheart.00081.2016
11. Gray SM, Aylor KW, Barrett EJ. Unravelling the regulation of insulin transport across the brain endothelial cell. *Diabetologia.* 2017;60. doi:10.1007/s00125-017-4285-4
12. Banks WA, Kastin AJ. Differential permeability of the blood-brain barrier to two pancreatic peptides: Insulin and amylin. *Peptides.* 1998;19: 883–889. doi:10.1016/S0196-9781(98)00018-7
13. Ghasemi R, Haeri A, Dargahi L, Mohamed Z, Ahmadiani A. Insulin in the brain: Sources, localization and functions. *Molecular Neurobiology.* 2013. pp. 145–171. doi:10.1007/s12035-012-8339-9
14. Baura GD, Foster DM, Kaiyala K, Porte D, Kahn SE, Schwartz MW. Insulin transport from plasma into the central nervous system is inhibited by dexamethasone in dogs. *Diabetes.* 1996;45. doi:10.2337/diab.45.1.86
15. Strubbe JH, Porte D, Woods SC. Insulin responses and glucose levels in plasma and cerebrospinal fluid during fasting and refeeding in the rat. *Physiol Behav.* 1988;44: 205–8. doi:10.1016/0031-9384(88)90139-4
16. Havrankova J, Schmechel D, Roth J, Brownstein AM. Identification of insulin in rat brain. *Neurobiology.* 1978;75: 5737–5741. doi:10.1073/pnas.75.11.5737
17. Havrankova J, Roth J, Brownstein MJ. Concentrations of insulin and of insulin receptors in the brain are independent of peripheral insulin levels. Studies of obese and streptozotocin-treated rodents. *J Clin Invest.* 1979;64: 636–642. doi:10.1172/JCI109504
18. Dorn A, Bernstein HG, Kostmann G, Hahn HJ, Ziegler M. An immunofluorescent reaction appears to insulin-antiserum in different CNS regions of two rat species. *Acta Histochem.* 1980;66. doi:10.1016/S0065-1281(80)80014-6
19. Dorn A, Bernstein HG, Hahn HJ, Ziegler M, Rummelfanger H. Insulin Immunohistochemistry of Rodent CNS: Apparent Species Differences but Good Correlation with Radioimmunological Data. *Histochemistry.* 1981;71: 609–616.
20. Eng J, Yalow RS. Evidence against extrapancreatic insulin synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981;78: 4576–4578. doi:10.1073/pnas.78.7.4576
21. Baskin DG, Porte D, Guest K, Dorsa DM. Regional concentrations of insulin in the rat brain. *Endocrinology.* 1983;112: 898–903. doi:10.1210/endo-112-3-898
22. Dorn A, Bernstein H □G, Rinne A, Ziegler M, Hahn H □J, Ansorge S. Insulin □ and glucagonlike peptides in the brain. *Anat Rec.* 1983;207. doi:10.1002/ar.1092070108
23. Pansky B, Hatfield JS. Cerebral localization of insulin by immunofluorescence. *Am J Anat.* 1978. doi:10.1002/aja.1001530309

24. Baskin DG, Woods SC, West DB, Houten M Van, Posner BI, Dorsa DM, et al. Immunocytochemical detection of insulin in rat hypothalamus and its possible uptake from cerebrospinal fluid. *Endocrinology*. 1983. doi:10.1210/endo-113-5-1818
25. Dorn A, Rinne A, Bernstein HG, Hahn HJ, Ziegler M. Insulin and C-peptide in human brain neurons (insulin/C-peptide/brain peptides/immunohistochemistry/radioimmunoassay). *J Hirnforsch*. 1983;24: 495–499.
26. Frölich L, Blum-Degen D, Bernstein HG, Engelsberger S, Humrich J, Laufer S, et al. Brain insulin and insulin receptors in aging and sporadic Alzheimer's disease. *J Neural Transm*. 1998;105: 423–438. doi:10.1007/s007020050068
27. Tokarz VL, MacDonald PE, Klip A. The cell biology of systemic insulin function. *Journal of Cell Biology*. 2018. doi:10.1083/jcb.201802095
28. Weyhenmeyer JA, Fellows RE. Presence of immunoreactive insulin in neurons cultured from fetal rat brain. *Cell Mol Neurobiol*. 1983;3. doi:10.1007/BF00735000
29. Raizada MK. Localization of insulin-like immunoreactivity in the neurons from primary cultures of rat brain. *Exp Cell Res*. 1983;143. doi:10.1016/0014-4827(83)90061-7
30. Birch NP, Christie DL, Renwick AGC. Proinsulin-like material in mouse foetal brain cell cultures. *FEBS Lett*. 1984;168. doi:10.1016/0014-5793(84)80266-5
31. Clarke DW, Mudd L, Boyd FT, Fields M, Raizada MK. Insulin Is Released from Rat Brain Neuronal Cells in Culture. *J Neurochem*. 1986. doi:10.1111/j.1471-4159.1986.tb00686.x
32. Giddings SJ, Chirgwin J, Permutt MA. Evaluation of rat insulin messenger RNA in pancreatic and extrapancreatic tissues. *Diabetologia*. 1985;28. doi:10.1007/BF00283141
33. Young WS. Periventricular hypothalamic cells in the rat brain contain insulin mRNA. *Neuropeptides*. 1986;8: 93–97. doi:10.1016/0143-4179(86)90035-1
34. Schechter R, Beju D, Gaffney T, Schaefer F, Whetsell L. Preproinsulin I and II mRNAs and insulin electron microscopic immunoreaction are present within the rat fetal nervous system. *Brain Res*. 1996;736: 16–27. doi:10.1016/0006-8993(96)00664-6
35. Devaskar SU, Singh BS, Carnaghi LR, Rajakumar P a., Giddings SJ. Insulin II gene expression in rat central nervous system. *Regul Pept*. 1993;48: 55–63. doi:10.1016/0167-0115(93)90335-6
36. Mehran AE, Templeman NM, Brigidi GS, Lim GE, Chu KY, Hu X, et al. Hyperinsulinemia drives diet-induced obesity independently of brain insulin production. *Cell Metab*. 2012;16: 723–737. doi:10.1016/j.cmet.2012.10.019
37. Stempniak B, Guzek JW. Insulin-like immunoreactivity (IRI) in the rat hypothalamo- neurohypophysial system: Effect of dehydration and haemorrhage. *J Physiol Pharmacol*. 1993;44.
38. Dakic TB, Jevdjovic T V., Peric MI, Bjelobaba IM, Markelic MB, Milutinovic BS, et al. Short-term fasting promotes insulin expression in rat hypothalamus. *Eur J Neurosci*. 2017;46: 1730–1737. doi:10.1111/ejn.13607
39. Devaskar SU, Giddings SJ, Rajakumar PA, Carnaghi LR, Menon RK, Zahm DS. Insulin gene expression and insulin synthesis in mammalian neuronal cells. *J Biol Chem*. 1994;269: 8445–8454. doi:10.1016/s0021-9258(17)37214-9
40. Dheen ST, Tay SSW, Wong WC. Localization of insulin-like immunoreactive neurons in the rat gracile nucleus. *Histol Histopathol*. 1996;11.
41. Rosenzweig JL, Havrankova J, Lesniak MA, Brownstein M, Roth J. Insulin is ubiquitous in extrapancreatic tissues of rats and humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1980;77. doi:10.1073/pnas.77.1.572
42. Stevenson RW. Further evidence for non-pancreatic insulin immunoreactivity in guinea pig brain. *Horm Metab Res*. 1983;15. doi:10.1055/s-2007-1018779
43. Bernstein HG, Dorn A, Reiser M, Ziegler M. Cerebral insulin-like immunoreactivity in rats and mice: Drastic decline during postnatal ontogenesis. *Acta Histochem*. 1984;74: 33–36. doi:10.1016/S0065-1281(84)80022-7
44. Dorn A, Ziegler M, Bernstein HG, Dietz H, Rinne A. Concerning the presence of an insulin-related peptide in the human brain: An immunohistochemical reinvestigation by use of monoclonal insulin antibodies. *Acta Histochem*. 1984;74. doi:10.1016/S0065-1281(84)80032-X
45. Schechter R, Holtzclaw L, Sadiq F, Kahn A, Devaskar S. Insulin synthesis by isolated rabbit neurons. *Endocrinology*. 1988. doi:10.1210/endo-123-1-505
46. Schechter R, Whitmire J, Wheet GS, Beju D, Jackson KW, Harlow R, et al. Immunohistochemical and in situ hybridization study of an insulin-like substance in fetal neuron cell cultures. *Brain Res*. 1994;636. doi:10.1016/0006-8993(94)90170-8

47. Lee J, Kyungchan K, Hyun CJ, Young BJ, O'Leary T, Johnson J, et al. Insulin synthesized in the paraventricular nucleus of the hypothalamus regulates body length by modulating pituitary growth hormone production. *JCI insight*. 2020;6: e135412. doi:10.1016/j.jbror.2019.07.1239
48. Singh BS, Rajakumar PA, Eves EM, Rosner MR, Wainer BH, Devaskar SU. Insulin gene expression in immortalized rat hippocampal and pheochromocytoma-12 cell lines. *Regul Pept*. 1997;69: 7–14. doi:10.1016/S0167-0115(96)02120-9
49. Madadi G, Dalvi PS, Belsham DD. Regulation of brain insulin mRNA by glucose and glucagon-like peptide 1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;376: 694–699. doi:10.1016/j.bbrc.2008.09.054
50. Molnar G, Farago N, Kocsis AK, Rozsa M, Lovas S, Boldog E, et al. GABAergic Neurogliaform Cells Represent Local Sources of Insulin in the Cerebral Cortex. *J Neurosci*. 2014. doi:10.1523/JNEUROSCI.4082-13.2014
51. Kuwabara T, Kagalwala MN, Onuma Y, Ito Y, Warashina M, Terashima K, et al. Insulin biosynthesis in neuronal progenitors derived from adult hippocampus and the olfactory bulb. *EMBO Mol Med*. 2011;3: 742–54. doi:10.1002/emmm.201100177
52. Mazucanti CH, Liu QR, Lang D, Huang N, O'Connell JF, Camandola S, et al. Release of insulin produced by the choroids plexis is regulated by serotonergic signaling. *JCI Insight*. 2019;4: e131682. doi:10.1172/jci.insight.131682
53. Song J, Xu Y, Hu X, Choi B, Tong Q. Brain expression of Cre recombinase driven by pancreas-specific promoters. *Genesis*. 2010. doi:10.1002/dvg.20672
54. Wicksteed B, Brissova M, Yan W, Opland DM, Plank JL, Reinert RB, et al. Conditional gene targeting in mouse pancreatic β -cells: Analysis of ectopic cre transgene expression in the brain. *Diabetes*. 2010. doi:10.2337/db10-0624
55. Lamotte L, Jackerott M, Bucchini D, Jami J, Joshi R, Deltour L. Knock-in of diphtheria toxin a chain gene at Ins2 locus: Effects on islet development and localization of Ins2 expression in the brain. *Transgenic Res*. 2004;13. doi:10.1007/s11248-004-9587-x
56. Havrankova J, Roth J, Brownstein M. Insulin receptors are widely distributed in the central nervous system of the rat. *Nature*. 1978;272: 827–829. doi:10.1038/272827a0
57. Brief DJ, Davis JD. Reduction of food intake and body weight by chronic intraventricular insulin infusion. *Brain Res Bull*. 1984;12. doi:10.1016/0361-9230(84)90174-6
58. Chavez M, Riedy CA, Van Dijk G, Woods SC. Central insulin and macronutrient intake in the rat. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol*. 1996;271. doi:10.1152/ajpregu.1996.271.3.r727
59. Dube MG, Phelps CP, Sninsky CA, Kalra PS. Insulin and insulin-like growth factor ii suppress neuropeptide y release from the nerve terminals in the paraventricular nucleus: A putative hypothalamic site for energy homeostasis. *Endocrinology*. 1995;136. doi:10.1210/endo.136.12.7588328
60. Neary NM, Goldstone AP, Bloom SR. Appetite regulation: From the gut to the hypothalamus. *Clinical Endocrinology*. 2004. pp. 153–160. doi:10.1046/j.1365-2265.2003.01839.x
61. Palou M, Sánchez J, Rodríguez AM, Priego T, Picó C, Palou A. Induction of NPY/AgRP orexigenic peptide expression in rat hypothalamus is an early event in fasting: Relationship with circulating leptin, insulin and glucose. *Cell Physiol Biochem*. 2009;23: 115–124. doi:10.1159/000204100
62. Benoit SC, Air EL, Coolen LM, Strauss R, Jackman A, Clegg DJ, et al. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *J Neurosci*. 2002;22. doi:10.1523/jneurosci.22-20-09048.2002
63. Bruning JC, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, et al. Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science (80-)*. 2000;289: 2122–2125. doi:8841 [pii]
64. Obici S, Zhang BB, Karkanias G, Rossetti L. Hypothalamic insulin signaling is required for inhibition of glucose production. *Nat Med*. 2002;8: 1376–1382. doi:10.1038/nm798
65. Scherer T, OHare J, Diggs-Andrews K, Schweiger M, Cheng B, Lindtner C, et al. Brain insulin controls adipose tissue lipolysis and lipogenesis. *Cell Metab*. 2011;13: 183–194. doi:10.1016/j.cmet.2011.01.008
66. Vogt MC, Brüning JC. CNS insulin signaling in the control of energy homeostasis and glucose metabolism - from embryo to old age. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. 2013. pp. 76–84. doi:10.1016/j.tem.2012.11.004
67. Bunner AE, Chandrasekera PC, Barnard ND. Knockout mouse models of insulin signaling: Relevance past and future. *World J Diabetes*. 2014. doi:10.4239/wjd.v5.i2.146
68. Plum L, Schubert M, Brüning JC. The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab*. 2005;16: 59–65. doi:10.1016/j.tem.2005.01.008

69. Kleinridders A, Ferris HA, Cai W, Kahn CR. Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. *Diabetes*. 2014;63: 2232–2243. doi:10.2337/db14-0568
70. Grillo CA, Piroli GG, Hendry RM, Reagan LP. Insulin-stimulated translocation of GLUT4 to the plasma membrane in rat hippocampus is PI3-kinase dependent. *Brain Res*. 2009;1296: 35–45. doi:10.1016/j.brainres.2009.08.005
71. Schechter R, Yanovitch T, Abboud M, Johnson G, Gaskins J. Effects of brain endogenous insulin on neurofilament and MAPK in fetal rat neuron cell cultures. *Brain Res*. 1998. doi:10.1016/S0006-8993(98)00842-7
72. Schechter R, Abboud M. Neuronal synthesized insulin roles on neural differentiation within fetal rat neuron cell cultures. *Dev Brain Res*. 2001. doi:10.1016/S0165-3806(01)00110-9
73. Schechter R, Yanovitch T, Abboud M, Gaskins J, Johnson G, Warren WK. Brain Endogenous Insulin Phosphorylated MAPK and Affected Axonal Growth in Fetal Rat Neuron Cell Cultures † 480. *Pediatr Res*. 1998. doi:10.1203/00006450-199804001-00501
74. Leroux L, Desbois P, Lamotte L, Duvillié B, Cordonnier N, Jackerott M, et al. Compensatory responses in mice carrying a null mutation for *Ins1* or *Ins2*. *Diabetes*. 2001. doi:10.2337/diabetes.50.2007.s150
75. Vujovic PZ. Ekspresija neuroendokrinih regulatora energetske homeostaze tokom različitih faza metaboličkog odgovora na gladovanje. University of Belgrade. 2011.
76. Dakic T, Jevdjovic T, Lacic I, Djurasevic SF, Djordjevic J, Vujovic P. Food For Thought: Short-Term Fasting Upregulates Glucose Transporters in Neurons and Endothelial Cells, But Not in Astrocytes. *Neurochemical Research*. 2019. doi:10.1007/s11064-018-2685-6
77. Camandola S, Mattson MP. Brain metabolism in health, aging, and neurodegeneration. *EMBO J*. 2017;36: 1474–1492. doi:10.15252/embj.201695810
78. Sankar R, Thamotharan S, Shin D, Moley KH, Devaskar SU. Insulin-responsive glucose transporters - GLUT8 and GLUT4 are expressed in the developing mammalian brain. *Mol Brain Res*. 2002;107. doi:10.1016/S0169-328X(02)00487-4
79. Alquier T, Leloup C, Lorisignol A, Pénicaud L. Translocable glucose transporters in the brain: Where are we in 2006? *Diabetes*. 2006;5: S131-138. doi:10.2337/db06-S021
80. Messina G, Palmieri F, Monda V, Messina A, Dalia C, Viggiano A, et al. Exercise causes muscle GLUT4 translocation in an insulin-independent manner. *Biol Med*. 2015. doi:10.4172/0974-8369.100053007
81. Cohen P, Nimmo HG, Proud CG. How does insulin stimulate glycogen synthesis? *Biochem Soc Symp*. 1978; 69–95.
82. Rui L. Energy metabolism in the liver. *Compr Physiol*. 2014;4: 177–197. doi:10.1002/cphy.c130024
83. Brown AM, Ransom BR. Astrocyte glycogen and brain energy metabolism. *GLIA*. 2007. pp. 1263–1271. doi:10.1002/glia.20557
84. Dringen R, Hamprecht B. Glucose, insulin, and insulin-like growth factor I regulate the glycogen content of astroglia-rich primary cultures. *J Neurochem*. 1992;58: 511–517. doi:10.1111/j.1471-4159.1992.tb09750.x
85. Choi IY, Seaquist ER, Gruetter R. Effect of hypoglycemia on brain glycogen metabolism in vivo. *J Neurosci Res*. 2003;72: 25–32. doi:10.1002/jnr.10574
86. Dakic T, Jevdjovic T, Djordjevic J, Vujovic P. Short-term fasting differentially regulates PI3K/AKT/mTOR and ERK signalling in the rat hypothalamus. *Mech Ageing Dev*. 2020. doi:10.1016/j.mad.2020.111358
87. Lu J, Lezi E, Wang WF, Frontera J, Zhu H, Wang WT, et al. Alternate day fasting impacts the brain insulin-signaling pathway of young adult male C57BL/6 mice. *J Neurochem*. 2011. doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07184.x
88. Clodfelder-Miller B, De Sarno P, Zmijewska AA, Song L, Jope RS. Physiological and pathological changes in glucose regulate brain Akt and glycogen synthase kinase-3. *J Biol Chem*. 2005. doi:10.1074/jbc.M508824200
89. Liu Z, Patil IY, Jiang T, Sancheti H, Walsh JP, Stiles BL, et al. High-fat diet induces hepatic insulin resistance and impairment of synaptic plasticity. *PLoS One*. 2015. doi:10.1371/journal.pone.0128274
90. Davis EC, Shryne JE, Gorski RA. Structural sexual dimorphisms in the anteroventral periventricular nucleus of the rat hypothalamus are sensitive to gonadal steroids perinatally, but develop peripubertally. *Neuroendocrinology*. 1996;63: 142–8. doi:10.1159/000126950
91. Semaan SJ, Kauffman AS. Sexual differentiation and development of forebrain reproductive circuits. *Curr Opin Neurobiol*. 2010;20: 424–31. doi:10.1016/j.conb.2010.04.004



IMPRESUM

Trendovi u molekularnoj biologiji, 2022.

Izdavač

**Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,
Univerzitet u Beogradu**

Urednik

Dr **Sonja Pavlović**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Uređivački odbor

Dr **Jelena Begović**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Prof. dr **Ivana Novaković**, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr **Dužanka Savić Pavićević**, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Ana Đorđević**, naučni savetnik,
Univerzitet u Beogradu Institut za biološka istraživanja
„Siniša Stanković“

Recenzenti

Dr **Svetlana Radović**, redovni profesor,
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Vesna Škodrić Trifunović**, redovni profesor,
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Gordana Nikčević**, naučni savetnik,
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo
Univerzitet u Beogradu

Dizajn i izrada korica

Ivan Strahinić

Štampa

Curent Print, Beograd

Periodičnost izlaženja publikacije

Godišnje

Tiraž

100 primeraka

Autori

Aleksandar Cingel.....	238
Ana Branković.....	63
Ana Djordjević.....	63
Branislava Medić Brkić.....	15
Dragana Srebro.....	15
Dunja Drakulić.....	168
Dusan Keckarević.....	51, 275
Goran Brajušković.....	63
Gordana Matić.....	8
Ilona Đorić.....	75
Ivana Guševac Stojanović.....	168
Jelena Martinović.....	186
Jelena Perić.....	143
Jovana Despotović.....	90
Katarina Savić Vujović.....	15
Katarina Zeljić.....	223
Mariana Stanišić.....	255
Marijana B. Živković.....	104
Marina Zarić Kontić.....	186
Milena Trajković.....	238
Milena Ugrin.....	32
Milica Keckarević Marković.....	51, 275
Milica Popović.....	63
Miljana Kecmanović.....	51, 275
Neda Đorđević.....	206
Nevena Banjac.....	223
Nikola Jovanović.....	125
Predrag Vujović.....	155
Sladjana Jevremović.....	238
Slavica Ninković.....	223
Sonja Šelemetjev.....	75
Sonja Vučković.....	15
Suzana Matijašević-Joković.....	63
Tamara Dakić.....	155
Tatjana Mitrović.....	125
Tijana Išić Denčić.....	75
Zorana Dobrijević.....	63

CIP - Каталогизacija u publikaciji
Nародна библиотека Србије, Београд

577.2

TRENDOVI u molekularnoj biologiji = Trends in
Molecular Biology. - 2022, br. 2 (sep.)- . - Beograd :
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,
2021- (Beograd : Curent Print). - 28 cm

Godišnje. - Tekst na srp. i engl. jeziku.
ISSN 2787-2947 = Trendovi u molekularnoj biologiji
COBISS.SR-ID 45105929