

**Srpsko društvo za mitohondrijalnu i  
slobodno-radikalnu fiziologiju**

**Prvi Kongres**

**“Mitohondrije i slobodni radikali  
u biomedicini”**

*-perspektive-*



**KNJIGA SAŽETAKA**  
*Beograd, 24. septembar 2011.*

# **KNJIGA SAŽETAKA**

## **Prvi Kongres**

**“Mitohondrije i slobodni radikali u biomedicini”  
- perspektive -**

**24. septembar 2011.  
Beograd, Srbija**

**SDMSRF - 2011**

**Urednici:  
Bato Korać  
Vesna Otašević**

**Izdavač:**

Srpsko društvo za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju  
Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije  
Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković"  
Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet  
Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet  
Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet

**Za izdavača:**

Bato Korać  
Snežana Pajović  
Pavle Pavlović  
Nada Kovačević  
Jelena Knežević-Vukčević  
Vladimir Bumbaširević

**Urednici:**

Bato Korać  
Vesna Otašević

**Tehnički urednici:**

Vesna Otašević  
Ana Stančić  
Milica Vučetić

**Dizajn:**

Aleksandra Janković

**Štampa:** "Rival Copy d.o.o.": 200 primeraka

Autorska prava © 2011 od strane Srpskog društva za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju i drugih saradnika. Sva prava zadržana. Nijedan deo ove publikacije ne može biti reprodukovan u bilo kom obliku ili bilo kojim sredstvom, bez pismene dozvole izdavača.

**ISBN: 978-86-912893-1-7**

## **Pozdravna reč**

Poštovane kolegice i kolege,

Nekada put realizacije ideje izgleda nepredvidiv i traži ogromnu energiju, ne obećavajući uspeh. Tako je to u životu, a ovaj naš septembarski Kongres: „**MITOHONDRIJE I SLOBODNI RADIKALI U BIOMEDICINI – PERSPEKTIVE**“, deo je života ideje **Srpskog društva za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju**.

Ta ideja danas je vođena energijom svih učesnika Kongresa. Zato je zadovoljstvo videti na okupu sve naučne grupe iz Srbije koje se bave istraživanjem uloga reaktivnih vrsta, mitohondrija i energetske homeostaze u biologiji, medicini i hemiji. Istraživanja objedinjuju široko polje prirodnih nauka, od fundamentalnih ispitivanja značaja redoks regulacije fizioloških procesa, reprodukcije i energetske homeostaze, do patoloških stanja i brojnih oboljenja, od dijabetesa, metaboličkog sindroma, do kancera.

Mladi naučni radnici izložiće na Kongresu rezultate timova u kojima rade i predstaviti planirane eksperimente. To je moto ovog Kongresa, a energija mladosti zalag za budućnost. Nema lepšeg načina da afirmišemo slobodne radikale, oksidante i antioksidante, zajedno sa fundamentalnim ulogama koje imaju u kreiranju života i smrti. Na krilima te energije započemo i pripremu međunarodnog kongresa u organizaciji Srpskog društva za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju.

U ime Društva želim da se zahvalim svima koji su pomogli održavanje kongresa, a učesnicima da poželim plodnu naučnu aktivnost. Družeći se uspostavljajmo nove kontakte, učimo i zabavljajmo se, razmenjujmo iskustva – životna i naučna, učinimo da nam i 24. septembar 2011. bude dan za sećanje; **“perspektive”** se naziru, koračamo ka njima.

Želim Vam dobrodošlicu,

## **Bato Korać**

Predsednik Srpskog društva za mitohondrijalnu  
i slobodno-radikalnu fiziologiju

## **ORGANIZATORI**

**Srpsko društvo za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju**

**Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije**

### **Univerzitet u Beogradu:**

*Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“*

*Farmacentski fakultet*

*Medicinski fakultet*

*Biološki fakultet*

*Institut za nuklearne nauke „Vinča“*

*Hemijski fakultet*

*Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo*

*Institut za multidisciplinarna istraživanja*

*Institut za medicinska istraživanja*

### **Univerzitet u Nišu:**

*Medicinski fakultet*

### **Univerzitet u Novom Sadu:**

*Poljoprivredni fakultet*

*Prirodno-matematički fakultet*

### **Univerzitet u Kragujevcu:**

*Prirodno-matematički fakultet*

*Medicinski fakultet*

### **Univerzitet u Prištini sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici:**

*Prirodno-matematički fakultet*

*Medicinski fakultet*

## **ORGANIZACIONI I NAUČNI ODBOR**

### **Predsednik odbora:**

**Bato Korać**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

### **Članovi:**

**Silvana Andrić**, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet.

**Biljana Buzadžić**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

**Gordana Cvijić**, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet.

**Dragan Đurić**, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet.

**Selma Kanazir**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

**Gordana Kocić**, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet.

**Aleksandra Korać**, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet.

**Katica Kosanović**, Univerzitet u Prištini, Prirodno-matematički fakultet.

**Tatjana Kostić**, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet.

**Jelena Kotur-Stevuljević**, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet.

**Radmila Kovačević**, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet.

**Vuk Maksimović**, Univerzitet u Beogradu, Institut za multidisciplinarna istraživanja.

**Danijela Maksimović-Ivanić**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

**Ivanka Marković**, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet.

**Snežana Marković**, Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet.

**Ivana Momčilović**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

**Gordana Nikčević**, Univerzitet u Beogradu, IMGGI.

**Vesna Niketić**, Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet.

**Branka Ognjanović**, Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet.

**Vesna Otašević**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

**Snežana Pajović**, Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“.

**Dušica Pavlović**, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet.

**Nataša Petronijević**, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet.

**Zorica Saičić**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

**Ana Savić-Radojević**, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet.

**Tatjana Simić**, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet.

**Mihajlo Spasić**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

**Slavica Spasić**, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet.

**Milena Stevanović**, Univerzitet u Beogradu, IMGGI.

**Andraš Štajn**, Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet.

**Gordana Ušćebrka**, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.

**Melita Vidaković**, Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja.

# Program

8:30 – 9:30 Registracija

9:30 – 9:50 Svečano otvaranje Kongresa i pozdravne reči

9:50 – 10:30 Predavanja po pozivu (2 x 20 minuta)

predsedavajući: Snežana Pajović, Radmila Kovačević

Tatjana Jevtović-Stoimenov

Epigenetske promene genomske i mitohondrijalne DNK u autoimunim bolestima.

*Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Niš*

Vesna Otašević

Reaktivne vrste kiseonika i azota u reprodukciji: moguća primena u lečenju humanog steriliteta. *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

10:30 – 10:40 Diskusija

10:40 – 11:20 Kratka usmena saopštenja (4 x 10 minuta)

predsedavajući: Tatjana Simić, Ana Stančić

Miron Sopić

Uticaj kratkotrajne i dugotrajne fizičke aktivnosti na stabilnost limfocitne DNK kod mladih fudbalera. *Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Beograd*

Milica Vučetić

**AMPK $\alpha$  i HIF1 $\alpha$  regulišu metabolički odgovor u mrkom masnom tkivu.** *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

**Nataša Đorđević**

**Antioksidacioni efekti estradiola u eritrocitima trudnica sa preeklampsijom.** *Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Kragujevac*

**Milica Markelić**

**Uloga gvožđa u oštećenjima mitohondrija i formiranju lipofuscina u mrkim adipocitima pacova.** *Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd*

**11:20 – 11:30 Diskusija**

**11:30 – 12:00 Pauza za kafu**

**12:00 – 13:00 Predavanja po pozivu (3 x 20 minuta)**  
predsedavajući: **Zorica Saičić, Katica Kosanović**

**Aleksandra Stefanović**

**Oksidativni stres i paraoksonaze u aterosklerozi.** *Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Beograd*

**Melita Vidaković**

**Terapeutski potencijal biljnih ekstrakata: regulacija redoks statusa u eksperimentalnom modelu dijabetesa.** *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

**Silvana Andrić**

**Mitohondrije i azot oksid u održavanju steroidogeneze i funkcije Leydig-ovih ćelija.** *Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad*



13:00 – 13:10 **Diskusija**

13:10 – 13:50 **Kratka usmena saopštenja (4 x 10 minuta)**  
predsedavajući: Slavica Spasić, Branka Ognjanović

**Andrej Veljković**

Lipidna peroksidacija, oksidacija proteina, ekspresija nuklearnog transkripcionog faktora B, aktivnost matriks metaloproteinaze 9 i katalaze u karcinomu debelog creva.

*Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Niš*

**Slavica Borković-Mitić**

Biomarkeri oksidacionog stresa u različitim tkivima slatkovodnih školjki. *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

**Sonja Misirlić-Denčić**

Superoksidni anjon kao pokretač apoptoze nezavisne od kaspaza u ćelijama humane leukemijske linije HL-60 nakon tretmana novim organskim jedinjenjem estarskog tipa.

*Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd*

**Aleksandar Mihajlović**

Efekat blokade alfa<sub>1</sub>-adrenergičkih ( $\alpha_1$ -ADR) ili glukokortikoidnih receptora (GR) na stresom-indukovan poremećaj NO-cGMP signalnog puta u Leydig-ovim ćelijama adultnih pacova. *Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad*

13:50 – 14:00 **Diskusija**

14:00 – 16:00 **Ručak i prezentacija postera**

16:00 – 16:40 **Predavanja po pozivu (3 x 20 minuta)**  
predsedavajući: Mihajlo Spasić, Dušica Pavlović

## **Marija Matić**

Glutation transferaze kao biomarkeri rizika za nastanak karcinoma mokraćne bešike.

*Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd*

## **Danijela Maksimović-Ivanić**

Antiinflamatorni lekovi modifikovani azot oksidom u terapiji kancera. *Univerzitet u*

*Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

## **Nataša Petronijević**

Dugotrajni uticaj perinatalne primene fenciklidina na NO sistem u mozgu pacova.

*Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd*

**17:00 – 17:10    Diskusija**

**17:10 – 18:00    Kratka usmena saopštenja (5 x 10 minuta)**

predsedavajući: Jelena Kotur-Stevuljević, Ana Savić-Radojević

## **Vladimir Živković**

Efekte različitih izoformi homocisteina na oksidacioni stres izolovanog srca pacova.

*Univerzitet u Kragujevcu, Medicinski fakultet, Kragujevac*

## **Jasmina Ivanišević**

Povezanost MMP9-TIMP1 kompleksa i PON1 sa parametrima oksidativnog stresa i lipidnog statusa kod pacijenata sa sarkoidozom. *Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski*

*fakultet, Beograd*

## **Dušan Mladenović**

Lipidna peroksidacija i aktivnost katalaze u mozgu pacova u akutnoj insuficijenciji jetre izazvanoj tioacetamidom. *Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd*

Sonja Šuvakov

Povećan oksidativni stres kod bolesnika obolelih od hronične bubrežne insuficijencije sa GSTP1 Val105Val genotipom. *Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd*

Dragana Đačić

Sinergistička antiproliferativna aktivnost gljive *Phellinus linteus* i kompleksa platine (IV)  $[\text{Pt}(\text{dp}-(S,S)\text{-eddp})\text{Cl}_4]$  na ćelijsku liniju humanog kolon kancera (HCT-116). *Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Kragujevac*

18:00 – 18:10 Diskusija

18:10 – Svečano zatvaranje Kongresa i dodela nagrada

## **PREDAVANJA PO POZIVU**

## **EPIGENETSKE PROMENE GENOMSKE I MITOHONDRIJALNE DNK U AUTOIMUNIM BOLESTIMA**

Tatjana Jevtović-Stoimenov, Dušica Pavlović i Gordana Kocić

*Institut za Biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, Niš, Srbija.*

Epigenetski mehanizmi, kao osnovni regulatori genske ekspresije, od esencijalnog su značaja za normalan razvoj i funkciju imunog sistema. Poremećaj u održavanju epigenetske homeostaze u imunom odgovoru, kao posledica delovanja različitih faktora, uključujući i faktore životne sredine, dovodi do aberantne ekspresije gena genomske i mitohondrijalne DNK, što doprinosi imunoj disfunkciji i, u nekim slučajevima, dovodi do razvoja autoimunih bolesti kod genetski predisponiranih osoba.

Brojni su dokazi koji potvrđuju uticaj epigenetike na pojavu autoimunih bolesti. Defekt u DNK metilaciji genomske DNK karakterističan je za T limfocite pacijenata sa aktivnim lupusom, sinoviocyte obolelih od RA i neuralne ćelije pacijenata sa MS. Razlika u DNK metilaciji kod jednojajčanih blizanaca korelira sa pojavom SLE. Takođe je dokazano da DNK hipometilacija T i B ćelija korelira sa smanjenom aktivnošću DNMT i acetilacijom histona u SLE. Identični epigenetski efekti se dešavaju u eksperimentalno demetilisanim i lupusnim T ćelijama na DNK, mRNK, proteinima i funkcionalnom nivou najmanje 4 gena koji su odgovorni za autoreaktivnost T-ćelija i prekomernu stimulaciju B-ćelija (*ITGAL*, *TNFSF7*, *CD40LG* i *PRF1*). Inhibicija DNK metil transferaze (DNMTs) indukuje sistemski lupus eritematosus (SLE) kod životinja. Slična imunološka oboljenja mogu se izazvati ubacivanjem normalnih T ćelija izloženih delovanju inhibitora DNMT u zdrave miševе. Povećana ekspresija gena mitohondrijalne DNK, odgovornih za kodiranje proteina kompleksa I respiratornog lanca, dokazana je kod obolelih od MS i SLE, a može biti posledica poremećaja epigenetske homeostaze.

Od značaja je i činjenica da su ove promene reverzibilne, tj. da se blokadom IL-6 autokrine petlje na B ćelijama obolelih od lupusa oporavlja metilacioni status, što predstavlja nove perspektive u terapiji autoimunih bolesti.

## **ULOGA REAKTIVNIH VRSTA KISEONIKA I AZOTA U REPRODUKCIJI: MOGUĆA PRIMENA U LEČENJU HUMANOG STERILITETA**

Vesna Otašević<sup>1</sup>, Aleksandra Korać<sup>2</sup>, Milica Vučetić<sup>1</sup>, Biljana Macanović<sup>3</sup>,  
Eliana Garalejić<sup>3</sup>, Aleksandra Janković<sup>1</sup>, Ana Stančić<sup>1</sup>, Biljana Buzadžić<sup>1</sup>,  
Ksenija Veličković<sup>2</sup>, Milica Markelić<sup>2</sup>, Igor Golić<sup>2</sup> i Bato Korać<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Univerzitet u Beogradu, Biloški fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija.*

Sazrevanje spermatozoida i oocita do stepena potentnih, fertilno sposobnih ćelija, sama fertilizacija i razvoj embriona su redoks senzitivni procesi. Međutim, iako bez reaktivnih vrsta kiseonika i azota (engl. reactive oxygen i nitrogen species, ROS i RNS), pre svega superoksid anjon radikala ( $O_2^{\cdot-}$ ) i azot oksida ( $\cdot NO$ ) nema novog života, mehanizmi redoks regulacije tokom fertilizacije nedovoljno su poznati.

Stoga, ova studija izučava redoks zavisne regulatorne mehanizme tokom različitih stupnjeva humane fertilizacije. To pre svega uključuje status mitohondrija, ključnog mesta produkcije i delovanja ROS/RNS, produkujuće sisteme za  $O_2^{\cdot-}$  i  $\cdot NO$ , kao i  $O_2^{\cdot-}$  i  $\cdot NO$  zavisne signalne puteve tokom sazrevanja spermatozoida i razvoja ranog embriona. Ovi aspekti su izučavani u spermatozoidima sa različitim patologijama (oligospermija, teratospermija, astenospermija), uz testiranje mogućeg poboljšanja njihovog kapacitivnog i fertilizacionog potencijala specifičnim modulatorom  $O_2^{\cdot-}$  i  $\cdot NO$  produkcije - superoksid anjon dismutaznim mimetikom,  $[Mn(pyane)Cl_2]$ . Kod fragmentisanih preimplantacionih embriona istraživanja su usmerena na determinisanje razlike u mitohondrijalnom statusu normalnih, nisko i visoko fragmentisanih preimplantacionih embriona, koje bi pre svega doprinelo poznavanju etiologije ovog patološkog procesa.

Rezultati pokazuju da  $[Mn^{II}(pyane)Cl_2]$  poboljšava funkcionalni status mitohondrija spermatozoida i time njihov kvalitet, kao i da je fragmentacija preimplantacionih embriona redoks-senzitivan proces. Stoga, studija ukazuje da modulacija redoks statusa medijuma za kapacitaciju spermatozoida i kultivaciju embriona može biti relevantan terapijski pristup za povećanje fertilnosti spermatozoida, kao i preživljavanje embriona kako u postupku asistirane fertilizacije tako i kod infertilnih stanja koja se karakterišu poremećajem mitohondrija i/ili redoks stanja spermatozoida, oocita i embriona.

## **OKSIDATIVNI STRES I PARAOKSONAZE U ATEROSKLEROZI**

Aleksandra Stefanović, Jelena Kotur-Stevuljević, Slavica Spasić, Vesna Kalimanovska-Spasojević i Zorana Jelić-Ivanović

*Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za medicinsku biohemiju, Vojvode Stepe 450, 11 000 Beograd, Srbija.*

Ateroskleroza je oboljenje zida velikih i srednjih arterija koje karakteriše endotelna disfunkcija, vaskularna inflamacija i progresivna akumulacija lipida što rezultuje formiranjem ateroma, odnosno fibrolipidnog plaka. Ateroskleroza je pratilac različitih patoloških stanja u kojima je povećana produkcija slobodnih radikala. Cilj ove studije bio je ispitivanje oksidativno-stresnog statusa i statusa enzima paraoksonaze-1 kod pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću (CHD), pacijenata sa tipom 2 dijabetes melitusa (DM) i bubrežnih pacijenata (BP).

Parametri oksidativnog statusa [lipidna peroksidacija merena kao tiobarbiturna kiselina-reagujuća supstanca (TBKRS), stvaranje superoksid anjon radikala ( $O_2^-$ ), aktivnost superoksid dizmutaze (SOD), ukupne sulfhidrilne grupe] i paraoksonazni status (PON1) određivani su kod 156 pacijenata sa koronarnom arterijskom bolešću, 114 pacijenata sa tipom 2 dijabetes melitusa i 140 bubrežnih pacijenata.

Parametri oksidativnog stresa bili su statistički značajno viši, a parametri antioksidativne zaštite statistički značajno niži u svim ispitivanim patološkim grupama u odnosu na odgovarajuće kontrolne grupe. Aktivnosti enzima PON1 bile su statistički značajno niže u CHD grupi ( $p < 0.05$ ) i DM grupi ( $p < 0.001$ ) u odnosu na zdrave ispitanike. U BP grupi nije uočena statistički značajna razlika u PON1 aktivnosti između pacijenata sa hroničnom bubrežnom insuficijencijom (CRI) i kontrolne grupe ispitanika, međutim kod pacijenata na hemodijalizi (HD), aktivnosti su bile statistički značajno niže i u odnosu na CRI grupu ( $p < 0.05$ ) i u odnosu na kontrolnu grupu ( $p < 0.001$ ). Raspodela fenotipova enzima PON1 nije bila statistički značajno različita kod CHD i DM grupe u odnosu na zdrave ispitanike. U BP grupi, procenat pacijenata sa aterogenim RR fenotipom bio je statistički značajno viši u HD grupi u odnosu na CRI i kontrolnu grupu ( $p < 0.001$ ). Parametri oksidativnog stresa bili su statistički značajno viši kod svih pacijenata sa aterogenim RR fenotipom.

Rezultati ovog istraživanja nedvosmisleno ukazuju na postojanje intenzivnog oksidativnog stresa u patologijama praćenim aterosklerozom.

## **TERAPEUTSKI POTENCIJAL BILJNIH EKSTRAKATA: REGULACIJA REDOKS STATUSA U EKSPERIMENTALNOM MODELU DIJABETESA**

Melita Vidaković, Mirjana Mihailović, Aleksandra Uskoković, Svetlana Dinić, Jelena Arambašić, Jelena Marković, Nevena Grdović i Goran Poznanović

*Laboratorija za molekularnu biologiju, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.*

Diabetes mellitus je metabolički poremećaj rangiran kao jedan od pet vodećih uzroka smrtnosti u svetu. Pojačana produkcija i/ili nedovoljno uklanjanje kiseoničnih i azotnih radikala dovodi do razvoja dijabetesa i uslovljava dalje komplikacije kao što su: vaskularna disfunkcija, retinopatija, nefropatija, neuropatije i dr. Usled konstantnog narušavanja prirodnog antioksidativnog balansa organizma, suočeni smo sa konstantnom potrebom za novom kombinacijom antioksidanata, kako u medicini, tako i u svakodnevnoj ishrani. Cilj predstavljene studije je iznalaženje novih kombinacija antioksidanata prirodnog porekla koji bi imali efekta na protekciju organizma od štetnog dejstva slobodnih radikala.

U *in vivo* studiji eksperimentalni dijabetes je izazvan višekratnom dozom streptozotocina (40 mg/kg/5 dana), a ekstrakt žitarica i gljiva obogaćen beta-glukanom je ispitivan kao potencijalni redoks-protektor. U cilju ispitivanja protektivnog dejstva beta-glukana rađeni su sledeći eseji: TBARS, GSH/GSSG, Komet, enzimske aktivnosti SOD i katalaze, kao i opšti biohemijski parametri.

Kod dijabetičnih životinja tretiranih beta-glukanom uočeno je (i) smanjenje nivoa glukoze, triglicerida, ukupnog holesterola, ALT, AST i kreatinina što ukazuje na poboljšane biohemijske parametre i opšte stanje organizma i (ii) smanjenje nivoa lipidne peroksidacije u jetri i bubregu, povećanje aktivnosti ukupne SOD i katalaze, povećanje odnosa redukovano/oksidovanog glutationa kao i smanjenje DNK oštećenja.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da prirodni polisaharid beta-glukan pored imunostimulatornog ima i antioksidativni kapacitet. Ukratko, beta-glukan bi bio idealan izbor u potencijalnoj kombinaciji antioksidanata koja bi morala da sadrži različite komponente koje neće biti lako prepoznate, kontrolisane i ekskretovane iz organizma, što otvara nove mogućnosti u prevenciji i tretmanu dijabetesa.



## **MITOHONDRIJE I AZOT OKSID U ODRŽAVANJU STEROIDOGENEZE I FUNKCIJE LEYDIG-OVIH ČELIJA**

Silvana A Andrić, Marija M Janjić, Aleksandar I Mihajlović, Srđan J Sokanović, Aleksandar Z Baburski, Maja M Bjelić, Nataša J Stojkov i Tatjana S Kostić

*Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Odeljenje za biologiju i ekologiju, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Srbija.*

Steroidogeneza predstavlja procese biosinteze steroidnih hormona, od zajedničkog prekursora holesterola, preko niza steroidnih međuprodukata, a uz učešće različitih enzima i regulatornih proteina koji čine steroidogenu mašineriju. Princip steroidogeneze je isti u svim steroid-produkujućim ćelijama, a ono što obezbeđuje specifičnost je ekspresija ćelijski/tkivno specifičnih regulatornih proteina i kompleksni procesi neuro-endokrinih, endokrinih, parkrinih i autokrinih mehanizama regulacije. S obzirom da se ograničavajuće faze steroidogeneze odvijaju u mitohondrijama, broj i funkcionalno stanje ovih ćelijskih organela su od izuzetnog značaja za homeostazu svih steroidnih hormona. Pokazana je neophodnost funkcionalnih, metabolički aktivnih i polarizovanih mitohondrija za proces biosinteze testosterona u Leydig-ovim ćelijama testisa. Mitohondrije se uključuju u regulaciju homeostaze androgena i preko produkcije reaktivnih kiseoničnih radikala i azot-oksida (NO). Interesantno je da NO u velikim koncentracijama inhibiše proces steroidogeneze Leydig-ovih ćelija vezujući se za hem steroidogenih CYP enzima, dok u malim koncentracijama stimuliše androgenozu preko cGMP-PRKG1 signalinga. Takođe, NO-cGMP signalni put učestvuje u adaptivnom odgovoru Leydig-ovih ćelija na stresom-indukovan poremećaj biosinteze testosterona. Sa druge strane, kao "povratna sprega", *in vivo* aplikacija testosterona stimuliše "proapoptotički" NO signaling i inhibira "antiapoptotički" cGMP signaling, te indukuje apoptozu Leydig-ovih ćelija. Ova testosteronom-indukovana apoptoza Leydig-ovih ćelija doprinosi adaptivnoj reakciji uspostavljanja nove "androgene homeostaze" preko regulacije brojnosti populacije Leydig-ovih ćelija. Fiziološki značaj ovih rezultata ogleda se u produkciji NO/cGMP i androgena, podržavajući značaj mitohondrija i NO signalinga u sinhronizaciji funkcije Leydig-ovih ćelija prilikom njihove adaptacije na poremećenu homeostazu organizma. U svemu tome, ne postoji dovoljno podataka o mitohondrijalnoj biogenezi u ćelijama koje sintetišu steroidne hormone, a kontrola kvaliteta mitohondrija, kao i ravnoteža između biogeneze i mitofagije, se sve više prepoznaje kao bitan element u održavanju optimalnog funkcionisanja ne samo steroidogenih, nego i svih drugih tkiva.

*Istraživanja su finansirana sa projekata APV2397 i MNI73057.*

## GLUTATION TRANSFERAZE KAO BIOMARKERI RIZIKA ZA NASTANAK KARCINOMA MOKRAĆNE BEŠIKE

Marija Matić<sup>1</sup>, Tatjana Pekmezović<sup>2</sup>, Tatjana Đukić<sup>1</sup>, Jasmina Mimić-Oka<sup>1</sup>, Dejan Dragičević<sup>3</sup>, Biljana Krivić<sup>3</sup>, Sonja Šuvakov<sup>1</sup>, Ana Savić Radojević<sup>1</sup>, Marija Plješa Ercegovac<sup>1</sup>, Vesna Čorić<sup>1</sup>, Jovana Jakovljević<sup>1</sup> i Tatjana Simić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet Dr Subotića 8, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za epidemiologiju, Višegradaska 26A, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Klinički Centar Srbije, Institut za urologiju i nefrologiju, Resavska 51, 11000 Beograd, Srbija.

Karcinomi mokraćne bešike (KMB) se češće javljaju kod pušača i osoba profesionalno izloženim hemijskim agensima. Pretpostavlja se da genetski polimorfizam detoksikujućih enzima glutation S-transferaza (GST), koji za posledicu ima odsustvo ili izmenjenu katalitičku efikasnost ovih enzima, u velikoj meri određuje interindividualne varijacije u podložnosti za nastanak KMB. Stoga je u ovom radu ispitivana uloga polimorfizma *GSTAI*, *GSTMI*, *GSTPI* i *GSTTI* gena, pušenja, profesionalne izloženosti metalima (M), pesticidima (P) i bojama i/ili lakovima (B/L) i teritorije Balkanske endemske nefropatije (BEN) u nastanku KMB.

Studija slučajeva i kontrola uključivala je 201 pacijenta sa KMB i 121 osobu koje su činile kontrolnu grupu. Delecioni polimorfizam *GSTMI* i *GSTTI* gena određen je reakcijom lančanog umnožavanja. Polimorfizam jednog nukleotida *GSTAI* i *GSTPI* gena određen je analizom polimorfizma dužine restrikcionih fragmenata.

Varijantni aleli *A1*, *M1*, *P1* i *T1* *GST* nisu bili nezavisni faktori rizika za nastanak KMB. Kod pušača sa *GSTAI CT/TT* i *GSTMI nultim* genotipom rizik za nastanak KMB je bio povećan (OR=3,5, p<0,05) u odnosu na *GSTAI CC* i *GSTMI aktivne* nepušače. Modifikacija rizika za nastanak KMB pod uticajem *GSTAI CT/TT* i *GSTMI aktivnog* genotipa (OR=4, p<0,05; OR=4,5, p=0,05) je postojala kod osoba profesionalno izloženih M u odnosu na *GSTAI CC* i *GSTMI aktivne* neizložene osobe. Pokazan je statistički značajan efekat *GSTPI AG/GG* genotipa kod izloženih P (OR=8,9, p=0,05) u odnosu na *GSTPI AA* neizložene osobe. Takođe, uočena je modifikacija rizika za nastanak KMB pod uticajem *GSTMI aktivnog* genotipa (OR=6, p<0,05) kod izloženih B/L u odnosu na *GSTMI aktivne* neizložene osobe. Analizirajući kombinovan efekat teritorije BEN-a i polimorfizma GST na rizik za nastanak KMB najjača asocijacija je pronađena kod *GSTAI CT/TT*, *GSTMI* i *GSTTI aktivnog* genotipa (OR=2,6, 2,9 i 2, p<0,05) u odnosu na *GSTAI CC*, *GSTMI* i *GSTTI aktivne* osobe koje nisu sa teritorije BEN-a.

Sve navedeno govori u prilog tome da genetski polimorfizam GST može imati uticaj na individualnu podložnost za nastanak KMB.

## ANTIINFLAMATORNI LEKOVI MODIFIKOVANI AZOT MONOKSIDOM U TERAPIJI KANCERA

Danijela Maksimović-Ivanić<sup>1</sup>, Sanja Mijatović<sup>1</sup>, Marija Mojić<sup>1</sup>, Đorđe Miljković<sup>1</sup>,  
Yousef Al-Abed<sup>2</sup>, Ferdinando Nicoletti<sup>3</sup> i Stanislava Stošić-Grujičić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Odeljenje  
za imunologiju, Bulevar despota Stefana 142, Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Feinstein institut za medicinska istraživanja, Njujork, SAD;

<sup>3</sup>Odeljenje za biomedicinske nauke, Medicinski fakultet, Univerzitet u Kataniji, Katanija,  
Italija.

Nesteroidni antiinflamatorni lekovi modifikovani kovalentnim vezivanjem azot monoksida (NO-NSAID) pokazali su snažan antitumorski potencijal. Polazeći od ovog pristupa sintetisan je derivat izoksazola VGX1027, agensa sa inicijalnim antiinflamatornim delovanjem, nazvan GIT-27NO. Za razliku od postojećih NO-NSAID, za vezivanje NO donirajuće grupe u novosintetisanom molekulu nije korišćen "nosač". Sprovedena hemijska modifikacija rezultirala je sticanjem antitumorskih svojstava leka. GIT-27NO redukuje vijabilitet brojnih ćelijskih linija različitog porekla i karakteristika i jednako je efikasan na linijama rezistentnim na konvencionalne citostatike poput cisplatin. Rezultati dobijeni u *in vitro* uslovima potvrđeni su i na nekoliko singenih i ksenograft modela solidnih i metastatskih tumora. Uočeni pad vijabiliteta je posledica indukcije različitih tipova programirane ćelijske smrti. Mehanizam delovanja je uslovljen specifičnošću same ćelijske linije i nije uslovljen prisustvom funkcionalnih medijatora apoptoze kao što su tumor supresor p53 ili kaspaze. GIT-27NO oslobađa NO samo u kontaktu sa ćelijom i u poređenju sa konvencionalnim donorima, potentnije povećava intracelularnu koncentraciju ovog slobodnog radikala. Ovo ima za posledicu intenziviranu produkciju ROS/RNS i masovnu nitraciju tirozinskih rezidua, blokirajući prenos signala ključnih za vitalnost ćelije. Mete leka su, između ostalog, MAP kinaze (protein kinaze aktivirane mitogenom) kao i transkripcioni faktor osetljiv na NO- YY1, odgovoran za transkripciju različitih gena uključenih u procese proliferacije i diferencijacije. Plastičnost delovanja, niska toksičnost kao i visoka efikasnost čine ovaj agens dobrim kandidatom za terapiju malignih bolesti.

*Ovaj rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije (projekat br. I73013).*

## DUGOTRAJNI UTICAJ PERINATALNE PRIMENE FENCIKLIDINA NA NO SISTEM U MOZGU PACOVA

Nevena V Radonjić<sup>1</sup>, Dušan Stevanić<sup>1</sup>, Marina Ilić<sup>1</sup>, Ana Gligić<sup>1</sup>, Tatjana Nikolić<sup>1</sup>,  
Vladimir Jakovljević<sup>2</sup>, Marina Jovanović<sup>3</sup> i Nataša D Petronijević<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Srbija;*

<sup>2</sup>*Medicinski fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac, Srbija;*

<sup>3</sup>*Institut za medicinska istraživanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija.*

Dosadašnja istraživanja su pokazala da u centralnom nervnom sistemu shizofrenih pacijenata postoji disfunkcionalnost NO sistema. Fenciklidin (PCP), disocijativni anestetik, je nekompetitivni antagonista NMDA receptora. Perinatalna primena fenciklidina predstavlja jedan od ubedljivijih animalnih modela shizofrenije. Cilj ove studije je bio da se ispita uticaj perinatalne primene fenciklidina na koncentraciju nitrita, aktivnost NADPH dijaforaze (NADPHd) i broj neurona koji eksprimiraju neuronalnu azot oksid sintazu (nNOS) u različitim moždanim regionima kao i da se odredi uticaj jednokratne primene test doze fenciklidina na koncentraciju nitrita i aktivnost NADPHd.

Četiri grupe *Wistar* pacova su tretirane subkutano 2, 6, 9. i 12. postnatalnog (PN) dana fenciklidinom (10 mg/kg) ili fiziološkim rastvorom (0.9% NaCl). Za ispitivanje dugotrajnog uticaja primene fenciklidina životinje su žrtvovane 70. PN dana. Za ispitivanje uticaja test doze PCP, eksperimentalna i kontrolna grupa životinja su primile jednokratnu test dozu fenciklidina (3 mg/kg, i.p.) i žrtvovane su nakon 1h.

Rezultati su pokazali da perinatalna primena fenciklidina uzrokuje dugotrajno smanjenje koncentracije NO u korteksu i povećanje u *nc. caudatus*-u, dok se istovremeno povećava aktivnost NADPHd u hipokampusu. Imunohistohemijskim studijama je pokazano povećanje broja nNOS<sup>+</sup> neurona u korteksu i hipokampusu pacova perinatalno tretiranih fenciklidinom. Primena test doze fenciklidina je dovela do region specifičnih promena u sadržaju NO i aktivnosti NADPHd kod životinja perinatalno tretiranih PCP.

Dobijeni podaci ukazuju da perinatalna primena fenciklidina ima dugotrajan uticaj na NO sistem u mozgu pacova. Neophodna su dalja istpitivanja mogućnosti upotrebe inhibitora NOS u cilju reverzije dugotrajnih deficita koje uzrokuje perinatalna primena fenciklidina.

## **KRATKA USMENA SAOPŠTENJA**

## **UTICAJ KRATKOTRAJNE I DUGOTRAJNE FIZIČKE AKTIVNOSTI NA STABILNOST LIMFOCITNE DNK KOD MLADIH FUDBALERA**

Miron Sopić<sup>1</sup>, Nataša Bogavac-Stanojević<sup>1</sup>, Ivana Baralić<sup>3</sup>, Brižita Đorđević<sup>2</sup>,  
Jelena Kotur-Stevuljević<sup>1</sup>, Aleksandra Stefanović<sup>1</sup> i Zorana Jelić-Ivanović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Katedra za medicinsku biohemiju, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Katedra za bromatologiju, Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija;*

<sup>3</sup>*Veľefarm a.d. Holding Kompanija, Beograd, Srbija.*

Intenzivna fizička aktivnost povezuje se sa pojačanom produkcijom slobodnih radikala usled čega se narušava oksidativno–antioksidativni balans i organizam uvodi u stanje pojačanog oksidativnog stresa. Slobodni radikali deluju na DNK i menjaju njenu strukturu i funkcionalnost. Adaptivni odgovor organizma ispoljava se podizanjem nivoa antioksidativne zaštite. Cilj rada bio je da se utvrde kratkoročni i dugoročni efekti intenzivne fizičke aktivnosti na stabilnost limfocitne DNK kod mladih fudbalera.

U studiji je učestvovalo 15 fudbalera uzrasta između 17–19 godina. Uzorci su sakupljeni neposredno pre i posle treninga, a zatim i nakon perioda od 45 dana svakodnevnih treninga. Stabilnost limfocitne DNK je ispitivana tehnikom elektroforeze pojedinačnih ćelija (kometa esejom). Srazmerno promenama na DNK formirano je 5 grupa (od 0-bez oštećenja do 4-najveća oštećenja), a promene su skorovane u intervalu od 0–400 arbitrarnih jedinica. Pored DNK skora, izračunat je DNK indeks (odnos oštećenih i neoštećenih ćelija) i procenat ćelija sa visokim oštećenjem (zbir ćelija rangiranih u grupe 2-4). U cilju procene stepena oksidativnog stresa u kome se ispitanici nalaze određeni su sledeći parametri: superoksidni anjon, malondialdehid (MDA), totalni oksidativni status (TOS), totalni antioksidativni status (TAS), prooksidativno-antioksidativni balans (PAB) i sulfhidrilne grupe.

Neposredno posle treninga nije bilo statistički značajnih promena u DNK skoru, DNK indeksu, dok je procenat ćelija sa visokim oštećenjem DNK bio viši nakon treninga, ali na granici statističke značajnosti ( $p=0.068$ ). Vrednosti TOS bile su značajno niže u odnosu na vrednosti pre treninga ( $p<0.001$ ). Nakon 45 dana utvrđen je značajan pad u procentu ćelija sa velikim oštećenjem DNK u odnosu na vrednosti pre treninga ( $p<0.05$ ). Istovremeno, koncentracije superoksidnog anjona i vrednosti TOS su bile statistički značajno niže ( $p<0.001$ ). Koncentracija sulfhidrilnih grupa bila je značajno viša ( $p<0.01$ ), dok je pad u koncentraciji MDA bio na granici statističke značajnosti ( $p=0.077$ ).

Dugotrajna fizička aktivnost pojačava antioksidativnu zaštitu što se ogleda u padu velikih oštećenja limfocitne DNK i parametara oksidativnog stresa. Nema dokaza da kratkotrajno vežbanje značajno utiče na nestabilnost limfocitne DNK.

## AMPK $\alpha$ i HIF1 $\alpha$ REGULIŠU METABOLIČKI ODGOVOR U MRKOM MASNOM TKIVU

Milica Vučetić<sup>1</sup>, Vesna Otašević<sup>1</sup>, Aleksandra Korać<sup>2</sup>, Ana Stančić<sup>1</sup>,  
Aleksandra Janković<sup>1</sup>, Milica Markelić<sup>2</sup>, Igor Golić<sup>2</sup>, Ksenija Veličković<sup>2</sup>,  
Biljana Buzadžić<sup>1</sup> i Bato Korać<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija.

Aktivacija termogenog odgovora mrkog masnog tkiva (*engl.* brown adipose tissue, BAT) zahteva molekulsko i strukturno remodeliranje tkiva uz reprogramiranje energetskog metabolizma. Cilj studije je bio da se ispita metabolički aspekt termogenog odgovora BAT kao i uloga ključnih faktora održanja energetske homeostaze u mrkim adipocitima - AMPK $\alpha$  (*engl.* AMP-activated protein kinase  $\alpha$ ) i HIF1 $\alpha$  (*engl.* hypoxia-induced factor 1 $\alpha$ ), tokom aklimacije na nisku temperaturu (1, 3, 7, 12, 21 i 45 dana na 4  $\pm$  1 °C).

Rezultati ukazuju da se u toku rane faze (do 7 dana) aklimacije na nisku temperaturu značajno povećava proteinska ekspresija AMPK $\alpha$  (1. dana) i HIF1 $\alpha$  (tokom ranog perioda aklimacije na hladnoću, 1-7. dana). Ovo je praćeno dinamičkim odgovorom i promenama na nivou ukupnog energetskog metabolizma BAT, koje obuhvataju specifično smanjenje proteinske ekspresije komponenti respiratornog lanca, glikolitičkog puta i  $\beta$ -oksidacije masnih kiselina, uz izmenjen metabolizam glikogena i lipida. U kasnijem periodu aklimacije na hladnoću (od 7-45. dana), ekspresija AMPK $\alpha$  i HIF1 $\alpha$  se smanjuje do kontrolnog nivoa, dok proteinska ekspresija svih ispitivanih metaboličkih parametara i komponenti respiratornog lanca dostiže homeostatski nivo. Sve ovo ukazuje na novouspostavljenu homeostazu u mrkim adipocitima.

Rezultati ukazuju da je karakterističan dvofazni profil promena metabolizma BAT tokom njegove aktivacije, sinhronizovan sa strukturnim remodeliranjem 'dormantnog' tkiva u ranom periodu, i razvijenim funkcionalnim termogenim odgovorom u kasnom periodu aktivacije. Takođe, sugerišu da dva ključna regulatora energetskog metabolizma, AMPK $\alpha$  i HIF1 $\alpha$ , imaju važnu ulogu u usaglašavanju reprogramiranja metaboličkog odgovora BAT.

## **ANTIOKSIDACIONI EFEKTI ESTRADIOLA U ERITROCITIMA TRUDNICA SA PREEKLAMPSIJOM**

Nataša Đorđević<sup>1</sup>, Goran Babić<sup>2</sup>, Miloš Matić<sup>1</sup>, Branka Ognjanović<sup>1</sup>, Andraš Štajn<sup>1</sup>  
i Zorica Saičić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Univerzitet u Kragujevcu, Institut za Biologiju i Ekologiju, Prirodno-matematički fakultet u Kragujevcu, 34000 Kragujevac, Srbija;*

<sup>2</sup>*Univerzitet u Kragujevcu, Medicinski Fakultet, 34000 Kragujevac, Srbija;*

<sup>3</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.*

Preeklampsija je sindrom karakterističan za humanu trudnoću sa visokim stepenom morbiditeta i mortaliteta majke i fetusa. Klinički se manifestuje posle 24. nedelje gestacije povišenim krvnim pritiskom ( $\geq 140/90$  mmHg) i proteinurijom ( $\geq 0.3$  g/24 h). Disfunkcija endotela je ključni faktor koji dovodi do kliničke manifestacije preeklampsije. Povećani oksidacioni stres i smanjena bioraspoloživost azot monoksida (NO) imaju značajnu ulogu u disfunkciji endotela u preeklampsiji. Cilj ove studije je bio da se ispituju promene vrednosti krvnog pritiska i koncentracija markera oksidacionog stresa u eritrocitima, kao i njihova korelacija u toku kratkotrajne terapije estradiolom.

Istraživanjem je obuhvaćeno 20 trudnica sa preeklampsijom u 37. nedelji gestacije, kod kojih su postojale indikacije za indukciju porođaja. Intramuskularna injekcija 17- $\beta$  estradiola aplicirana je trudnicama tokom tri dana pre indukcije porođaja. Pre terapije i u toku terapije estradiolom određivane su vrednosti srednjeg arterijskog pritiska (MAP), koncentracije estradiola u serumu i parametara oksidaciono-antioksidacionog sistema u eritrocitima: superoksid anjon radikal ( $O_2^-$ ), vodonik peroksid ( $H_2O_2$ ), nitriti ( $NO_2^-$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), hidrosilamin ( $NH_2OH$ ), redukovani glutation (GSH), oksidovani glutation (GSSG) i aktivnost glutation-reduktaze (GR).

Dobijeni rezultati pokazuju da se u toku terapije vrednosti MAP značajno smanjuju dok se koncentracija estradiola ne menja. Terapija estradiolom značajno redukuje koncentracije  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $NO_2^-$  i  $ONOO^-$  u eritrocitima preeklampsijskih trudnica. Koncentracije  $NH_2OH$  i GSH, kao i aktivnost GR se ne menjaju, dok se koncentracija GSSG značajno povećava tokom terapije. Pozitivna korelacija pokazana je između smanjenja koncentracija  $O_2^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $ONOO^-$  u eritrocitima i smanjenja vrednosti MAP u toku terapije estradiolom.

Rezultati ove studije pokazuju da terapijski primenjen estradiol u preeklampsiji, redukcijom parametara oksidacionog stresa, dovodi do povećanja bioraspoloživosti NO i doprinosi eritrocitima posredovanoj redukciji hipertenzije.



## **ULOGA GVOŽĐA U OŠTEĆENJIMA MITOHONDRIJA I FORMIRANJU LIPOFUSCINA U MRKIM ADIPOCITIMA PACOVA**

Milica Markelić<sup>1</sup>, Ksenija Veličković<sup>1</sup>, Igor Golić<sup>1</sup>, Vesna Otašević<sup>2</sup>, Ana Stančić<sup>2</sup>, Aleksandra Janković<sup>2</sup>, Milica Vučetić<sup>2</sup>, Biljana Buzadžić<sup>2</sup>, Bato Korać<sup>2</sup> i Aleksandra Korać<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd, Srbija.*

Cilj ove studije bio je da se ispita potencijalna uloga gvožđa u procesima lipofuscinogeneze i oštećivanja mitohondrija koja su primećena u mrkim adipocitima pacova tretiranih visokom dozom insulina (4 IJ/kg) u trajanju od jednog (akutan tretman) ili 3 dana (hroničan tretman) s obzirom na studije koje su pokazale da dodatak gvožđa značajno pojačava produkciju lipofuscina, kao i da aplikacija helatora gvožđa suprimira ovaj process.

Naime, naša ultrastrukturalna istraživanja pokazala su veću količinu lipofuscinskih granula kao i različite stupnjeve i vidove degradiranja mitohondrija u mrkim adipocitima hiperinsulinemičnih pacova. Konfokalnom mikroskopijom pokazano je da lipofuscin mrkih adipocita pacova autofluorescira nakon ekscitacije plavom (488nm) i crvenom svetlošću (633nm), a dokazana je i kolokalizacija ATP sintaze i lipofuscinskih granula upotrebom fluorescentne imunohistohemijske metode. Imunohistohemijska analiza na 4-hidroksinonenal (4-HNE) ukazala je na povećan stepen lipidne peroksidacije u mrkom masnom tkivu pacova tretiranih insulinom. Elektron-disperzivnom X-ray mikroanalizom (EDX) je pokazano da se kod obe hiperinsulinemične grupe povećava udeo Fe u tkivu, što je i potvrđeno metodom bojenja Pruskim plavim kojim je utvrđeno da se koncentracija Fe uvećava u samim adipocitima. Mogući izvori Fe u mrkim adipocitima su hemoglobin, pošto smo uočili značajan unos eritrocita u mrke adipocite, kao i njihovu razgradnju uz prisustvo značajne količine feritina u citoplazmi, ali i citohrom *c* iz degradiranih mitohondrija.

U zaključku, ovde prikazani rezultati ukazuju na postojanje veze između povećanja unutarćelijske koncentracije Fe, porasta oštećenja mitohondrija i lipidne peroksidacije i lipofuscinogeneze u mrkim adipocitima pacova tretiranih visokom dozom insulina.

*Rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije, #173055.*

## LIPIDNA PEROKSIDACIJA, OKSIDACIJA PROTEINA, EKSPRESIJA NUKLEARNOG TRANSKRIPCIONOG FAKTORA B, AKTIVNOST MATRIKS METALOPROTEINAZE 9 I KATALAZE U KARCINOMU DEBELOG CREVA

Andrej Veljković<sup>1</sup>, Gordana Kocić<sup>1</sup>, Dušica Pavlović<sup>1</sup>, Goran Stanojević<sup>2</sup>, Branko Branković<sup>2</sup>, Ivana Stojanović<sup>1</sup>, Tatjana Cvetković<sup>1</sup>, Dušan Sokolović<sup>1</sup>, Tatjana Jevtović<sup>1</sup>, Jelena Bašić<sup>1</sup> i Milena Marinković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra za biohemiju, Medicinski fakultet, Niš, Srbija;

<sup>2</sup>Hirurška klinika, Klinički centar, Niš, Srbija.

Karcinom debelog creva ima tendenciju da uskoro postane najčešći oblik karcinoma ljudske populacije. Reaktivne vrste kiseonika (RVK) su uključene u sve tri faze tumorigeneze: inicijaciju, promociju i progresiju tumora. Nuklearni faktor B (NF- $\kappa$ B) je redoks zavisni transkripcioni faktor uključen u aktivaciju puteva preživljavanja ćelije. Matriks metaloproteinaze (MMP) su cink zavisne endopeptidaze koje imaju ključnu ulogu u degradaciji komponenti ekstracelularnog matriksa, a promotor gena za MMP-9 ima vezujuće mesto za NF- $\kappa$ B. Cilj ove studije bio je da se odredi nivo produkata lipidne peroksidacije (MDA), nivo uznapredovalih oksidacionih produkata proteina (AOPP), ekspresija NF- $\kappa$ B, aktivnost enzima MMP9 i katalaze.

Istraživanje je sprovedeno na 28 pacijenata obolelih od karcinoma debelog creva, od kojih su neposredno nakon operacije uzimani uzorci malignog tkiva, udaljenog zdravog tkiva kolona koje je služilo kao kontrola, kao i makroskopski zdravog tkiva koje neposredno okružuje tumor. Aktivnost MDA, AOPP i katalaze je određivana spektrofotometrijski.

Aktivnost MMP9 je određena metodom *Elisa*. Ekspresija NF- $\kappa$ B određivana je metodom indirektno imunofluorescence. Rezultati studije pokazuju statistički značajan porast aktivnosti MMP9, ekspresije NF- $\kappa$ B, nivoa MDA i AOPP tumorskog u odnosu na zdravo tkivo kolona, ( $p < 0.001$ ), kao i smanjenje aktivnosti katalaze ( $p < 0.01$ ). Nivo MDA, AOPP i ekspresija NF- $\kappa$ B tkiva koje okružuje tumor su statistički značajno viši u odnosu na kontrolno zdravo tkivo ( $p < 0.01$ ), kao i aktivnost MMP9 ( $p < 0.05$ ).

Ovi rezultati sugerišu da je kolorektalna karcinogeneza povezana sa nivoom oksidativnog stresa, aktivacijom transkripcionih faktora, aktivnošću MMP9, kao i da se promene dešavaju i u tkivu koje okružuje tumor. Ova činjenica može biti od koristi prilikom određivanja margina tumorske resekcije.

## **POVEZANOST MMP9-TIMP1 KOMPLEKSA I PON1 SA PARAMETRIMA OKSIDATIVNOG STRESA I LIPIDNOG STATUSA KOD PACIJENATA SA SARKOIDOZOM**

Jasmina Ivanišević<sup>1</sup>, Jelena Kotur-Stevuljević<sup>1</sup>, Aleksandra Stefanović<sup>1</sup>, Milica Miljković<sup>1</sup>, Zorana Jelić-Ivanović<sup>1</sup>, Slavica Spasić<sup>1</sup>, Jelica Videnović<sup>2</sup>, Violeta Vučinić<sup>2</sup> i Jasmina Ilić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Katedra za medicinsku biohemiju, Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Klinika za plućne bolesti, Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija;*

<sup>3</sup>*Zdravstveni centar „Sveti Luka“, Smederevo, Srbija.*

Oksidativni stres i dislipidemija imaju značajnu ulogu u patogenezi sarkoidoze. Matriks-metaloproteinaze (MMP) dovode do proteolize oštećenog tkiva i aktivacije njihovih tkivnih inhibitora (TIMP) što konačno vodi stvaranju fibroznog tkiva. Paraoksonaza 1 (PON1) je deo antioksidativnog sistema organizma. Cilj rada je bio da se utvrdi povezanost MMP-TIMP kompleksa i PON1 sa oksidativnim stresom i lipidnim statusom kod pacijenata sa sarkoidozom.

Parametri oksidativnog stresa [malondialdehid (MDA), totalni oksidantni status (TOS), redoks balans (RB)], antioksidantne zaštite [superoksid dizmutaza (SOD), ukupne sulfhidrilne (SH) grupe, totalni antioksidantni status (TAS)], lipidnog statusa [(ukupni holesterol (TC), LDL-holesterol (LDL-c), HDL-holesterol (HDL-c), trigliceridi (TG)], kao i MMP9-TIMP1 i paraoksonazna (POazna) i diazoksonazna (DZOazna) aktivnost PON1 su određeni u serumu 213 pacijenata sa sarkoidozom i 90 zdravih odraslih osoba.

Kod pacijenata, značajna pozitivna korelacija je uočena između MMP9-TIMP1 kompleksa i TG i RB ( $r=0,306$ ,  $r=0,256$ ;  $P<0,05$ ) i TOS ( $r=0,396$ ;  $P<0,01$ ); između POazne aktivnosti i TC i LDL-c ( $r=0,302$ ,  $r=0,308$ ;  $P<0,01$ ); kao i DZOazne aktivnosti i HDL-c ( $r=0,201$ ;  $P<0,05$ ). Značajna negativna korelacija se dobija između MMP9-TIMP1 kompleksa i SOD ( $r=-0,265$ ;  $P<0,05$ ), kao i DZOazne aktivnosti i RB ( $r=-0,181$ ;  $P<0,05$ ). Koncentracija MMP9-TIMP1 kompleksa, POazna i DZOazna aktivnost su bile više kod pacijenata nego u kontrolnoj grupi, ali razlika nije dostigla statističku značajnost.

Značajna pozitivna korelacija MMP9-TIMP1 i PON1 sa parametrima oksidativnog stresa i lipidnog statusa ukazuje na udruženi doprinos svih parametara u oštećenju tkiva. Značajna negativna korelacija između pomenutih parametara dodatno pokazuje slabljenje antioksidativne zaštite. Vrednosti MMP9-TIMP1 i PON1 se ne razlikuju značajno između pacijenata i zdravih osoba što je verovatno posledica primenjene terapije kortikosteroidima.

## **SUPEROKSIDNI ANJON KAO POKRETAČ APOPTOZE NEZAVISNE OD KASPАЗA U ĆELIJAMA HUMANE LEUKEMIJSKE LINIJE HL-60 NAKON TRETMA NA NOVIM ORGANSKIM JEDINJENJEM ESTARSKOG TIPA**

Sonja Misirlić Denčić<sup>1</sup>, Jelena Lazić<sup>2</sup>, Nevena Zogović<sup>3</sup>, Marija Dulović<sup>1</sup>, Aleksandra Isaković<sup>1</sup>, Anđelka Isaković<sup>1</sup>, Tibor Sabo<sup>2</sup>, Vladimir Trajković<sup>4</sup> i Ivanka Marković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Studentski trg, 11000 Beograd, Srbija;*

<sup>3</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;*

<sup>4</sup>*Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija.*

Shodno zastupljenosti leukemija u morbiditetu i mortalitetu svetske i naše populacije, istraživanja na polju otkrivanja novih, efikasnijih hemioterapeutika ne jenjavaju. Cilj našeg rada je bio ispitivanje molekularnog mehanizma citotoksičnog delovanja novosintetisanog analoga etilendiamindipropanske kiseline (ligand3 = L3) na ćelijama humane akutne promijelocitne leukemijske linije (HL-60).

Novosintetisani ligand je pokazao toksično dejstvo na ćelijama HL-60 ćelijske linije nakon 24-časovnog tretmana ( $IC_{50} = 11.83 \mu M \pm 0.98 \mu M$ ). Analiza protočnom citometrijom je pokazala da njegova primena (50  $\mu M$ ) dovodi do povećanja produkcije superoksidnog anjona (koja dostiže maksimum nakon 1h) i sledstvene depolarizacije mitohondrija (maksimalna nakon 8h), pri čemu, uprkos izostanku aktivacije kaspaza, dolazi do povećanja procenta ćelija sa hipodiploidnim sadržajem DNK ( $75.27 \pm 2.03 \%$  nakon 24h) i internukleozomalne fragmentacije DNK, koja je potvrđena elektroforezom. Sa druge strane, pretretman ciklosporinom A (10  $\mu M$ ) je doveo do smanjenja procenta ćelija sa fragmentacijom DNK, ukazujući na ulogu depolarizacije unutrašnje membrane mitohondrija u mehanizmu citotoksičnog delovanja ispitivanog jedinjenja, dok je imunoblotom pokazano da nakon 8h tretmana (25  $\mu M$ ) dolazi do translokacije AIF u jedro, što ima za posledicu internukleozomalnu fragmentaciju kao završni korak u procesu apoptoze HL-60 ćelija indukovane novim ligandom.

Mehanizam citotoksičnog delovanja novosintetisanog cikloheksilnog analoga etilendiamindipropanske kiseline na ćelije humane leukemijske linije HL-60 *in vitro* uključuje pokretanje procesa apoptoze nezavisne od kaspaza kojem prethodi depolarizacija mitohondrija.

**EFEKAT BLOKADE ALFA1-ADRENERGIČKIH ( $\alpha$ 1-ADR) ILI  
GLUKOKORTIKOIDNIH RECEPTORA (GR) NA STRESOM-INDUKOVAN  
POREMEĆAJ NO-cGMP SIGNALNOG PUTA U LEYDIG-OVIM ČELIJAMA  
ADULTNIH PACOVA**

Aleksandar I Mihajlović, Nataša J Stojkov, Maja M Bjelić, Aleksandar Z Baburski,  
Srđan J Sokanović, Marija M Janjić, Tatjana S Kostić i Silvana A Andrić

*Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Odeljenje za biologiju i ekologiju, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Srbija.*

Poznato je da je azot oksid (NO) jedan od endogenih medijatora stresa. Raniji rezultati su pokazali da NO-cGMP signalni put učestvuje u adaptivnom odgovoru Leydig-ovih ćelija na stresom-indukovan poremećaj steroidogeneze. Pokazano je da deset puta ponavljani imobilizacioni stres (IMO10x2) smanjuje nivo ekspresije PDE5 (cGMP zavisne fosfodiesteraze) i povećava nivo ekspresije protein kinaze G1 (PRKG1). Cilj ovog rada bio je da razdvoji delovanje glavnih markera stresa, adrenalina i glukokortikoida, na stresom-indukovan poremećaj NO-cGMP signalnog puta u Leydig-ovim ćelijama.

Grupe adultnih pacova su tretirane intratestikularno prazosinom, antagonistom alfa1-adrenergičkih receptora ( $\alpha$ 1-ADR), ili sa RU486, antagonistom glukokortikoidnih receptora (GR), ili odgovarajućim rastvaračima, pre izlaganja akutnom (2h) ili ponavljanom (2 ili 10 uzastopnih dana, 2h na dan) IMO. Uporedo sa ovim, u istom maniru i u istoj vremenskoj odrednici, su tretirane i grupe slobodno pokretnih pacova. Od svih životinja su izolovane Leydig-ove ćelije i korišćene su za određivanje produkcije androgena, NO i cGMP-a, kao i za analizu ekspresije transkripata za elemente NO-cGMP signalnog puta.

Rezultati su pokazali da je jedino IMO10x2 smanjio nivo transkripata za eNOS i iNOS u Leydig-ovim ćelijama. Istovremeno, i produkcija NO je bila smanjena, a nivo cGMP-a nije bio promenjen. Ni blokada  $\alpha$ 1-ADR, kao ni blokada GR, nisu ukinule stresom-indukovane efekte. Pored toga, samo u ponavljanom IMO došlo je do smanjenja nivoa ekspresije PDE5 i povećanja nivoa transkripta za PRKG1 u Leydig-ovim ćelijama. Ovakvi efekti stresa su se zadržali čak i nakon blokade  $\alpha$ 1-ADR ili GR.

Fiziološki značaj ovih rezultata ogleda se u izmenjenoj produkciji NO i androgena, čime se ističe značaj NO-cGMP signalnog puta u regulaciji funkcije Leydig-ovih ćelija tokom njihove adaptacije.

*Istraživanja su finansirana sa projekata APV2397 i MNI73057.*

## **EFEKTI RAZLIČITIH IZOFORMI HOMOCISTEINA NA OKSIDACIONI STRES IZOLOVANOG SRCA PACOVA**

Vladimir Živković<sup>1</sup>, Vladimir Jakovljević<sup>1</sup>, Milena Vuletić<sup>1</sup>, Nevena Barudžić<sup>1</sup>  
i Dragan Đurić<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Institut za Fiziologiju, Medicinski Fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac, Srbija;*

<sup>2</sup> *Institut za Medicinsku Fiziologiju "Richard Burian", Medicinski Fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija.*

Jedinstven biohemijski profil homocisteina (Hcy) se karakteriše hemijskom reaktivnošću širokog spektra i tendencijom da promoviše oksidacionim stresom-indukovanu ćelijsku toksičnost. Brojne epidemiološke studije su ustanovile da homocistein, kao faktor rizika za kardiovaskularna oboljenja, remeti normalnu funkciju endotela posredstvom mehanizama u koje su uključene reaktivne kiseonične vrste. Cilj naše studije je bio da ispitamo uticaj različitih izoformi homocisteina na parametre oksidacionog stresa izolovanog srca pacova.

Srca (ukupan broj n=18, 6 za svaku eksperimentalnu grupu) izolovana iz pacova Wistar albino soja (muški pol, starosti 8 nedelja, telesne mase od 180-200g) su retrogradno perfundovana tehnikom po Langerdorfu, pri konstantnom perfuzionom pritisku, (70 cmH<sub>2</sub>O) i tretirana sa tri izoforme 10 μM homocisteina (DL-Hcy, L-Hcy and DL-Hcy TLHC). U prikupljenim uzorcima koronarnog venskog efluenta, spektrofotometrijski su određivani parametri oksidacionog stresa (indeks lipidne peroksidacije (meren kao TBARS), superoksid anjon radikal (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), vodonik peroksid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i azot monoksid (NO).

Prilikom poređenja sa kontrolama, ni jedan od ispitivanih parametara oksidacionog stresa nije bio statistički značajno promenjen pod uticajem bilo koje izoforme homocisteina. Sa druge strane, vrednosti TBARSA i NO su bile statistički značajno veće u DL-Hcy TLHC grupi u poređenju sa dvema ostalim izoformama homocisteina, dok O<sub>2</sub><sup>-</sup> i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nisu pokazali statistički značajne promene. Od svih ispitivanih izoformi homocisteina, DL-Hcy TLHC je ispoljio najznačajnije efekte na oksidacioni stres, povećavajući koncentraciju nekih reaktivnih kiseoničnih vrsta.

## BIOMARKERI OKSIDACIONOG STRESA U RAZLIČITIM TKIVIMA SLATKOVODNIH ŠKOLJKI

Slavica Borković-Mitić, Slađan Pavlović, Tijana Radovanović, Branka Perendija,  
Svetlana Despotović, Jelena Gavrić i Zorica S Saičić

*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje  
za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.*

U našoj studiji ispitivali smo biomarkere oksidacionog stresa - antioksidacione zaštitne enzime: superoksid-dismutazu (SOD), katalazu (CAT), glutation-peroksidazu (GSH-Px), glutation-reduktazu (GR), kao i enzim faze II biotransformacije glutation-S-transferazu (GST) u digestivnoj žlezdi, škragama i stopalu kod slatkovodnih školjki *Unio tumidus*, *Unio pictorum* i *Sinanodota woodiana* na četiri lokaliteta (Jamena, Sremska Mitrovica, Šabac i Ostružnica) na reci Savi.

Rezultati pokazuju da svi ispitivani biomarkeri oksidacionog stresa, kao i elektroforetska analiza SOD kod slatkovodnih školjki mogu da budu koristan parametar u biomonitoringu. Elektroforetskom analizom SOD u tkivima ispitivanih školjki dobijena je treća traka koja predstavlja jedinstvenu izoformu SOD-3 koja se pojavljuje samo u zagađenim uslovima sredine. Uz pomoć Spirman-ovih korelacija pokazano je da se aktivnost SOD razlikuje na lokalitetima što potvrđuje da se promena aktivnosti SOD može koristiti kao pouzdan biomarker. Promene aktivnosti CAT i GSH-Px su tkivno specifične. Aktivnost GR razlikuje se u odnosu na lokalitete i tkiva, tako da i promena aktivnosti GR može biti biomarker, ako se uzmu u obzir tkivne specifičnosti. Aktivnost GST razlikuje se po vrstama, lokalitetu i tkivu, što znači da GST može biti dobar biomarker, ako se prilikom analize uzmu u obzir i pomenute karakteristike.

Naša istraživanja predstavljaju prvi obiman izveštaj o promeni aktivnosti antioksidacionih zaštitnih enzima kao relevantnih biohemijskih biomarkera oksidacionog stresa kod slatkovodnih školjki *U. tumidus*, *U. pictorum* i *S. woodiana* na reci Savi. Svi ispitivani parametri mogu se koristiti kao efektivni biomarkeri za biomonitoring spoljašnje sredine. S obzirom da školjke predstavljaju jednu od važnih komponenti zajednice u velikim ravničarskim rekama Srbije, prikazana metodologija je primenjiva za rutinski molekularno fiziološki biomonitoring ovih ekosistema.

## **LIPIDNA PEROKSIDACIJA I AKTIVNOST KATALAZE U MOZGU PACOVA U AKUTNOJ INSUFICIJENCIJI JETRE IZAZVANOJ TIOACETAMIDOM**

Dušan Mladenović<sup>1</sup>, Tatjana Radosavljević<sup>1</sup>, Aleksandra Rašić-Marković<sup>2</sup>,  
Dragan Hrnčić<sup>2</sup>, Danijela Krstić<sup>3</sup>, Mirijana Čolović<sup>4</sup>, Snježana Petrović<sup>5</sup>,  
Nebojša Maksić<sup>6</sup>, Dragan Đurić<sup>2</sup> i Olivera Stanojlović<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za patološku fiziologiju, Medicinski fakultet, Dr Subotića 9, 11000 Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinsku fiziologiju „Rihard Burijan“, Medicinski fakultet, Višegradska 26/II, 11000 Beograd, Srbija;*

<sup>3</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, Medicinski fakultet, Višegradska 26/II, 11000 Beograd, Srbija;*

<sup>4</sup>*Univerzitet u Beogradu, Laboratorija za fizičku hemiju, Institut za nuklearne nauke „Vinča“, 11001 Beograd, Srbija;*

<sup>5</sup>*Univerzitet u Beogradu, Laboratorija za molekularnu biologiju i endokrinologiju, Institut za nuklearne nauke „Vinča“, 11001 Beograd, Srbija;*

<sup>6</sup>*Univerzitet u Beogradu, Klinički centar Srbije, Centar za medicinsku biohemiju, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija.*

Oksidativni stres ima značajnu ulogu u patogenezi hepatične encefalopatije. Cilj ove studije je bio da se ispita lipidna peroksidacija i aktivnost katalaze u različitim moždanim regionima u akutnoj insuficijenciji jetre izazvanoj tioacetamidom (TAA) kod pacova.

Mušjaci Wistar soja pacova su podeljeni u sledeće grupe: 1. kontrolna, tretirana fiziološkim rastvorom (C) i 2. grupe tretirane tioacetamidom: TAA<sub>300</sub> (300 mg/kg); TAA<sub>600</sub> (600 mg/kg) i TAA<sub>900</sub> (900 mg/kg). Ukupna doza TAA je podeljena na jednu (TAA<sub>300</sub>), dve (TAA<sub>600</sub>) ili tri (TAA<sub>900</sub>) pojedinačne doze (300 mg/kg) koje su administrirane tokom uzastopnih dana. Koncentracija amonijaka u krvi kao i nivo malondialdehida (MDA) i aktivnost katalaze u korteksu, hipokampusu i moždanom stablu su određivani 24 h nakon primene poslednje doze TAA.

Koncentracija amonijaka u krvi je bila značajno viša u svim grupama tretiranim TAA u poređenju sa C ( $p < 0.01$ ). Nivo MDA je bio značajno niži u svim moždanim regionima u TAA<sub>300</sub> u poređenju sa C ( $p < 0.01$ ). Nasuprot ovome, u TAA<sub>600</sub> nivo MDA je bio značajno povišen u moždanom stablu ( $p < 0.01$ ) i snižen u korteksu ( $p < 0.01$ ) u odnosu na C. U TAA<sub>900</sub> MDA je bio povišen u hipokampusu i moždanom stablu u poređenju sa C ( $p < 0.01$ ). Aktivnost katalaze je bila značajno povećana u korteksu i hipokampusu u svim grupama tretiranim TAA u odnosu na C. U moždanom stablu aktivnost katalaze je bila povišena u TAA<sub>600</sub> ( $p < 0.01$ ) i TAA<sub>900</sub> ( $p < 0.01$ ) u poređenju sa C.

U zaključku, moždani regioni pacova pokazuju različitu osetljivost na lipidnu peroksidaciju u akutnoj insuficijenciji jetre izazvanoj TAA. Uprkos porastu aktivnosti katalaze, najveću osetljivost na lipidnu peroksidaciju pokazuje moždano stablo, a najnižu cerebralni korteks.



## POVEĆAN OKSIDATIVNI STRES KOD BOLESNIKA OBOLELIH OD HRONIČNE BUBREŽNE INSUFICIJENCIJE SA GSTP1 VAL105VAL GENOTIPIOM

Sonja Šuvakov<sup>1</sup>, Tatjana Damjanović<sup>2</sup>, Nada Dimković<sup>2</sup>, Steva Plješa<sup>3</sup>, Vesna Čorić<sup>1</sup>,  
Marija Matić<sup>1</sup>, Jovana Jakovljević<sup>1</sup>, Marija Plješa Ercegovac<sup>1</sup>, Ana Savić Radojević<sup>1</sup>,  
Tatjana Djukić<sup>1</sup> i Tatjana Simić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet  
Dr Subotića 8, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Odeljenje za nefrologiju, KBC Zvezdara, Dimitrija Tucovića 161, 11050 Beograd,  
Srbija;

<sup>3</sup>Odeljenje za nefrologiju i dijalizu, KBC Zemun, Vukova 9, 11070 Zemun, Srbija.

Oksidativni stres ima važnu ulogu u nastanku hronične bubrežne insuficijencije (HBI) kao i razvoju komplikacija ove bolesti. Naš cilj bio je da se utvrdi uloga polimorfizma antioksidantnog enzima glutation S-transferaze P1 na podložnost za nastanak HBI kao i stepen oksidativnog oštećenja kod ovih bolesnika.

Studija slučaja i kontrola obuhvatila je 199 bolesnika sa HBI (60.0±12.1 godina starosti, 84 muških/115 ženskih) i 199 mečovanih kontrola (59.3±10.9 godina starosti, 85 muških/114 ženskih). *GSTP1* polimorfizam baznih parova je utvrđen analizom polimorfizma dužine restrikcionih fragmenata (PCR-RFLP). Koncentracija proteinskih tiol grupa, kao markera oksidativnog oštećenja proteina, je određivana spektrofotometrijski.

Distribucija *GSTP1* genotipa kod HBI bolesnika je bila *Ile105Ile* kod 37.7%, *Ile105Val* kod 38.7% i *Val105Val* kod 23.6% ispitanika. Kod kontrola ova distribucija je iznosila 41.2% *Ile105Ile*, 42.2% *Ile105Val* i 16.6% *Val105Val*. Analizom sva tri genotipa nije dobijena statistički značajna razlika između bolesnika i kontrola u podložnosti za nastanak HBI ( $p=0.194$ , OR= 1.2, 95% CI= 0.9-1.6). Nije bilo statistički značajne povezanosti između -313 G alela (*Val*) u podložnosti za nastanak HBI ( $p=0.112$ , OR= 1.6, 95% CI= 0.9-2.7). Bolesnici sa *Val105Val* genotipom imali su značajnije niže koncentracije proteinskih tiol grupa (srednja koncentracija 6.4±1.8 μmol/g proteina) u poređenju sa bolesnicima sa *Ile105Ile* genotipom (srednja koncentracija 7.3±2.2 μmol/g proteina,  $p=0.032$ ).

Učestalost *Val105Val* genotipa kod bolesnika sa HBI je bila viša u odnosu na kontrolnu grupu, mada rizik za HBI nije bio statistički značajan. Bolesnici sa *Val105Val* genotipom imali su veći stepen oksidativnog oštećenja.

**SINERGISTIČKA ANTIPROLIFERATIVNA AKTIVNOST GLJIVE *Phellinus liteus* I KOMPLEKSA PLATINE (IV) [Pt(dp-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>] NA ČELIJSKU LINIJU HUMANOG KOLON KANCERA (HCT-116)**

Dragana Đaćić<sup>1</sup>, Milan Stanković<sup>1</sup>, Verica Glodović<sup>2</sup>, Gordana Radić<sup>2</sup>,  
Srećko Trifunović<sup>2</sup>, Milena Čurčić<sup>1</sup>, Danijela Cvetković<sup>1</sup>, Marko Živanović<sup>1</sup>  
i Snežana Marković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>2</sup>Institut za hemiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija.

*Phellinus liteus* (Sang-hwang Lingzi) je lekovita gljiva koja se koristi u Kini, Koreji i Japanu. Kopitastog je oblika, gorkog ukusa, raste na stablu duda i vrbe. Klinički testovi su pokazali da su ekstrakti *Phellinus liteus* izuzetno efikasni u lečenju i prevenciji raka jetre, pluća, želuca i sa izrazitim dejstvom na imuni sistem. U cilju poboljšanja efikasnosti hemoterapeutika koji u svojoj osnovi imaju platinu (IV) sintetisan je kompleks [Pt(dp-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>], koji po svojim hemijskim karakteristikama brže prolazi kroz ćelijsku membranu.

U radu je ispitivano antiproliferativno dejstvo metanolnog ekstrakta gljive *Phellinus liteus* i kompleksa platine (IV), [Pt(dp-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>] u pojedinačnim tretmanima i kotretmanu *in vitro* uslovima na HCT-116 ćelijskoj liniji.

U cilju ispitivanja citotoksičnosti korišćen je MTT test. Antiproliferativno dejstvo izraženo je preko IC<sub>50</sub> vrednosti. IC<sub>50</sub> za metanolni ekstrakt *Phellinus liteus* iznosi 261.1 µg/ml za 24 h i 200.58 µg/ml za 72 h, dok za [Pt(dp-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>] IC<sub>50</sub>=96.08 µg/ml za 24 h i 68.023 µg/ml za 72 h. U kotretmanu sa [Pt(dp-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>] IC<sub>50</sub> za *Phellinus liteus* je 95.578 µg/ml za 24 h i 63.381 µg/ml za 72 h. Za determinaciju tipa ćelijske smrti korišćen je akridin oranž/etidijum bromid test. Ovim testom je pokazano da pojedinačni tretmani uvode ćeliju u ranu apoptozu nakon 24 h dok se nakon 72 h ćelije prelaze u stadijum kasne apoptoze. U kotretmanu posle 24 h značajan procenat ćelija se nalazi u ranoj i kasnoj apoptozi, a posle 72 h u kasnoj apoptozi i nekrozi.

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da metanolni ekstrakt *P. liteus* u kotretmanu sa [Pt(dp-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>], pokazuje jači citotoksični efekat u poređenju sa pojedinačnim tretmanima i izaziva apoptozu i nekrozu na HCT-116 ćelijskoj liniji u *in vitro* uslovima.

## **POSTER PREZENTACIJE**

**P 1**

**PARAMETRI OKSIDATIVNOG STRESA KOD VRHUNSKIH  
SPORTISTKINJA - EFEKAT TIPA SPORTA**

Aleksandra Arsić<sup>1</sup>, Sunčica Borozan<sup>2</sup>, Sanja Mazić<sup>3</sup> i Vesna Vučić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut za medicinska istraživanja, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Veterinarski fakultet, Beograd Srbija;*

<sup>3</sup>*Medicinski fakultet, Beograd, Srbija.*

Ćelije konstantno proizvode slobodne radikale i reaktivne kiseonične vrste kao deo metaboličkih procesa, ali je ta proizvodnja povećana u toku fizičke aktivnosti. Intenzivno vežbanje može da dovede do poremećaja ravnoteže između slobodnih radikala i antioksidanata i do povećanog oksidativnog stresa. Cilj našeg rada bio je da se ispitaju parametri oksidativnog stresa i antioksidativne odbrane kod vrhunskih sportistkinja.

U studiju je uključeno 15 vaterpolistkinja i 19 fudbalerki, a kontrolna grupa je formirana od 14 devojaka sličnog indeksa telesne mase, koje se ne bave fizičkom aktivnošću. Sve učesnice studije su bile stare 20-23 godine, zdrave i nisu uzimale dijetetske suplemente. Mereni su sledeći parametri: totalni antioksidativni status (TAS), malondialdehid (MDA), superoksid-dismutaza (SOD), katalaza, glutation-reduktaza (GR) i glutation-peroksidaza (GP).

Rezultati su pokazali značajno više vrednosti TAS i MDA, kao i povećanu aktivnost katalaze kod sportistkinja u poređenju sa kontrolnom grupom. Sa druge strane, nije nađena razlika u aktivnosti GR i GP između sportistkinja i kontrolne grupe. Aktivnost SOD bila je značajno viša u grupi vaterpolistkinja nego kod fudbalerki i kontrola, dok se te dve grupe međusobno nisu značajno razlikovale.

Dobijeni rezultati pokazuju da dugotrajna intenzivna fizička aktivnost dovodi do povećanja oksidativnog stresa, ali i da aktivnost SOD zavisi od tipa sporta kod vrhunskih sportistkinja.

**P 2**

**POREMEĆAJ REDOKS STATUSA KAO ODGOVOR NA EFEKAT  
PALADIJUMA I PALADIJUMSKIH KOMPLEKSA NA ČELIJSKE LINIJE  
HUMANOG KARCINOMA HCT-116 I MDA-MB-231**

Ana Obradović, Jovana Žižić, Anika Radulović, Emina Mrkalić, Zoran Matović  
i Snežana Marković

*Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12,  
34000 Kragujevac, Srbija.*

Paladijum (Pd) je danas jedan od lekova izbora pri lečenju pacijenata obolelih od kancera prostate i dojke. Njegova biološka aktivnost se ispituje intenzivno, a sintetiše se i veliki broj paladijumskih kompleksa u cilju povećanja hemoterapeutskog dejstva kao i smanjenja neželjenih dejstava. Cilj ovog istraživanja je da utvrdi da li ligandi i kompleksi paladijuma i liganada utiču na poremećaj redoks statusa, u čelijskim linijama kolon kancera HCT-116 i kancera dojke MDA-MB-231, usled koga može doći do značajnih promena u fiziološkom odgovoru ćelije.

HCT-116 i MDA-MB-231 ćelije su gajene u kompletnom medijumu, DMEM-u sa 10% FBS-om, 100 jedinica/ml penicilina i 100 mg/ml streptomocina u vlažnoj atmosferi sa 5% CO<sub>2</sub> na 37 °C. Ćelije su rasle u flasku od 75 cm<sup>2</sup>, a nakon nekoliko pasaža, po 500 000 ćelija po bunariću je zasejano u ploču sa 6 bunarića. Ćelije su 24 sata nakon zasejavanja tretirane sa 100 μM ratvorima liganada H<sub>4</sub>m<sub>da</sub> (malamido-N,N'-disirćetna kiselina), H<sub>4</sub>odp (malamido-N,N'-dipropionska kiselina), kao i kompleksima paladijuma sa ligandima, Pd + H<sub>4</sub>m<sub>da</sub> i Pd + H<sub>4</sub>odp. U medijumu, u kome su rasle ćelije, 24 časa nakon tretmana vršena je ekstrakcija i određivana je koncentracija superoksid anjon radikala (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), lipidnih peroksida (TBARS), redukovanog i oksidovanog glutationa (GSH i GSSG) i proteina spektrofotometrijski.

Rezultati pokazuju da je čelijska linija kolon kancera HCT-116 osetljivija na dejstvo oba kompleksa Pd + H<sub>4</sub>m<sub>da</sub> i Pd + H<sub>4</sub>odp, dok je čelijska linija kancera dojke MDA-MB-231 najosetljivija na dejstvo liganada H<sub>4</sub>m<sub>da</sub> i kompleksa paladijuma sa ovim ligandom Pd + H<sub>4</sub>m<sub>da</sub>, jer se u ćelijama javlja izraziti poremećaj redoks statusa na šta ukazuje višestruko smanjenje koncentracije GSH i povećanje koncentracije GSSG.

Na osnovu rezultata može se uočiti da i sami ligandi kao i kompleksi paladijuma sa ligandima utiču na biološku aktivnost koja se ogleda u poremećaju redoks statusa HCT-116 i MDA-MB-231 ćelija.

P 3

**ULOGA GLUTATIONA U REGULACIJI MOLEKULSKE OSNOVE  
REMODELIRANJA SKELETNIH MIŠIĆA NA HLADNOĆI**

Ana Stančić<sup>1</sup>, Aleksandra Janković<sup>1</sup>, Nevena Zelenović<sup>1</sup>, Vesna Otašević<sup>1</sup>,  
Milica Vučetić<sup>1</sup>, Biljana Buzadžić<sup>1</sup>, Aleksandra Korać<sup>2</sup>, Milica Markelić<sup>2</sup>,  
Ksenija Veličković<sup>2</sup>, Igor Golić<sup>2</sup> i Bato Korać<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija.

Skeletni mišići imaju bitnu ulogu u regulaciji termogeneze i ukupne metaboličke adaptacije organizma na nisku temperaturu. Mitohondrije su ključni medijatori funkcionalne aktivacije skeletnih mišića na hladnoći koja je praćena povećanim oksidativnim metabolizmom, pa samim tim i izmenjenim redoks statusom. Jedan od redoks molekula koji reguliše različite aspekte ćelijske fiziologije jeste glutation (GSH). Cilj ove studije bio je da se ispita uloga GSH u regulaciji molekulske osnove metaboličkog remodeliranja skeletnih mišića na hladnoći, sa akcentom na mitohondrijalni bioenergetski status.

Stoga su netretirani pacovi, kao i pacovi tretirani L-butionin-[S,R]-sulfoksiminom (BSO), specifičnim inhibitorom glutamat cistein ligaze, ključnog enzima u sintezi GSH izlagani niskoj temperaturi ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) tokom 1, 3, 7 i 21 dana.

U poređenju sa kontrolom ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ), hladnoća indukuje povećanje proteinskog nivoa ATP sintaze i PGC-1 $\alpha$  (*engl.* peroxisome proliferative activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$ ) u skeletnim mišićima. Pored toga kod životinja držanih na hladnoći, zabeležen je viši nivo proteina za Mn i Cu, Zn superoksid dismutazu (MnSOD i CuZnSOD), glutation peroksidazu i katalazu, u poređenju sa kontrolnim. Sa druge strane, BSO tretman negativno afektuje hladnoćom-indukovanu ekspresiju PGC-1 $\alpha$ , transkripcionog koaktivatora najodgovornijeg za regulaciju ukupne funkcije mitohondrija, kao i ATP status, smanjujući energetske potencijal u mišićnim ćelijama.

Generalno, naši rezultati jasno pokazuju da je održanje GSH homeostaze neophodan faktor za adekvatno molekulske remodeliranje skeletnih mišića tokom aklimacije na nisku temperaturu i samim tim fiziološki odgovor ovog tkiva tokom povećanih metaboličkih zahteva pri izlaganju hladnoći.

**P 4**

**ULOGA OKSIDATIVNOG STRESA U *in vitro* CITOTOKSIČNIM EFEKTIMA  
NOVOSINTETISANIH KOMPLEKSA BAKRA**

Andelka M Isaković, Sonja Misirlić Denčić i Ivanka Marković

*Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu,  
Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija.*

Visoka prevalenca i letalitet malignih oboljenja, dozno-ograničavajući neželjeni efekti i rezistencija postojećih antitumorskih agenasa, razlozi su zbog kojih se ulažu veliki naponi u sintezu i ispitivanje delovanja novih boljih citotoksičnih jedinjenja. Cilj ovog istraživanja je bio da ispita mehanizam citotoksičnosti dva novosintetisana kompleksa bakra na humanoj akutnoj promijelocitnoj leukemijskoj ćelijskoj liniji (HL-60).

Vijabilitet HL-60 ćelija je ispitivan određivanjem aktivnosti endogene kisele fosfataze. Koncentracije kompleksa koje su dovele do smanjenja vijabiliteta HL-60 ćelija za 50% (IC<sub>50</sub>) nakon 24-časovnog tretmana su iznosile 6.20±0.03 μM (kompleks 3) i 16.25±1.07 μM (kompleks 4). Ispitivanje mehanizama kojim kompleksi bakra dovode do oštećenja ćelija vršen je metodom protočne citometrije nakon primene odgovarajućih fluorohroma: dihidrorodamina (produkcija slobodnih kiseoničnih radikala), propidijum jodida (fragmentacija DNK) i akridin-oranža (prisustvo autofagolizozoma).

Analiza protočnom citometrijom je pokazala da primena ovih kompleksa dovodi do vremenski- i dozno-zavisnog povećanja sadržaja slobodnih kiseoničnih radikala u ćelijama nakon primene oba ispitivana kompleksa, da bi nakon 24-časovnog tretmana došlo do četvostrukog (kompleks 3), odnosno petostrukog (kompleks 4) porasta procenta ćelija sa hipodiploidnim sadržajem DNK u odnosu na netretirane ćelije. Idući tretman nije uzrokovao porast koncentracije acidofilnih vezikula (lizozoma/autofagolizozoma) u HL-60 ćelijama, ukazujući na odsustvo autofagije.

Ovi rezultati upućuju na zaključak da novosintetisani kompleksi bakra citotoksični efekat *in vitro* najverovatnije ostvaruju pokretanjem apoptotskog mehanizma usled povećanja produkcije slobodnih kiseoničnih radikala.

P 5

## UTICAJ SOD MIMETIKA NA MITOHONDRIJALNI STATUS HUMANIH SPERMATOZOIDA

Biljana Macanović<sup>1</sup>, Vesna Otašević<sup>2</sup>, Aleksandra Korać<sup>3</sup>, Milica Vučetić<sup>2</sup>, Eliana Garalejić<sup>1</sup>, Ivana Ivanović-Burmazović<sup>4</sup>, Miloš R Filipović<sup>4</sup>, Biljana Buzadžić<sup>2</sup>, Ana Stančić<sup>2</sup>, Aleksandra Janković<sup>2</sup>, Ksenija Veličković<sup>3</sup>, Igor Golić<sup>3</sup>, Milica Markelić<sup>2</sup> i Bato Korać<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ginekološko – akušerska klinika „Narodni front“, Kraljice Natalije 62, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>4</sup>Univerzitet u Erlangenu-Nirnberg, Institut za Hemiju i Farmaciju, Erlangen, Nemačka.

Mitohondrije su neophodne za normalno funkcionisanje spermatozoida i imaju ključnu ulogu u spermatogenezi, diferencijaciji, akrozomalnoj reakciji, fuziji oocite i spermatozoida i fertilizaciji. Navedeni ključni fertilizacioni procesi su redoks senzitivni, tj. regulisani su reaktivnim vrstama kiseonika i azota. Cilj istraživanja je bio da se ispita efekat modulacije redoks – statusa spermatozoida na mitohondrijalni status, distribuciju kao i ekspresiju komponenti mitohondrijalnog respiratornog lanca u njima.

Uzorci normozoospermičnih pacijenata su nakon sakupljanja i obrade u sperm gradijent medijumu (40 % i 80 %) podeljeni u 3 grupe: (1) kontrolnu, koja je resuspendovana u Tirodovom medijumu i odmah ispitivana, i druge dve grupe koje su inkubirane 3h na 37°C u 6% CO<sub>2</sub> atmosferi u (2) Tirodovom medijumu i (3) Tirodovom medijumu koji je sadržao 50μM superoksid dismutazni (SOD) Mn<sup>II</sup> makrociklični mimetik [Mn<sup>II</sup>(pyane)Cl<sub>2</sub>].

Rezultati ispitivanja su pokazali da nakon 3h inkubacije u Tirodovom medijumu dolazi do značajnog smanjenja populacije spermatozoida sa aktivnim mitohondrijama, kao i ekspresije kompleksa I i IV mitohondrijalnog respiratornog lanca. Tročasovna inkubacija u Tirodovom medijumu koji sadrži SOD mimetik restituiše populaciju aktivnih mitohondrija, kao i sadržaj mRNA kompleksa I i IV mitohondrijalnog elektron transportnog lanca.

Rezultati ukazuju da primena [Mn<sup>II</sup>(pyane)Cl<sub>2</sub>] SOD mimetika modulira redoks status spermatozoida i ima pozitivan efekat na status mitohondrija spermatozoida. Stoga, primena [Mn<sup>II</sup>(pyane)Cl<sub>2</sub>] SOD mimetika može biti novi način za poboljšanje funkcija spermatozoida, kako tokom *in vitro* fertilizacije, tako i za lečenja infertilnih stanja koja se karakterišu izmenjenom funkcijom mitohondrija i redoks stanja spermatozoida.



**P 6**

**AKTIVNOST ANTIOKSIDACIONIH ENZIMA U SOČIVIMA PACIJENATA SA SENILNOM KATARAKTOM**

Bojana Kisić<sup>1</sup>, Dijana Mirić<sup>1</sup>, Aleksandra Ilić<sup>3</sup>, Ilija Dragojević<sup>1</sup> i Lepša Žorić<sup>2</sup>

*Medicinski fakultet, Priština, sedište u Kosovskoj Mitrovici, <sup>1</sup>Institut za biohemiju, <sup>2</sup>Klinika za očne bolesti, <sup>3</sup>Katedra za preventivnu medicinu (Medicinska statistika i informatika), Srbija.*

Apsorpcijom dela ultraljubičastog spektra, očno sočivo štiti dublje strukture oka od štetnog dejstva ovog sunčevog zračenja, pri čemu samo vremenom podleže fotooksidacionim oštećenjima. Neposredni uzrok za pojavu katarakte nije poznat, ali se oksidaciona oštećenja i uticaj reaktivnih radikala kiseonika smatraju značajnim u njenoj etiopatogenezi. Cilj istraživanja je bilo praćenje pokazatelja oksidacionog stresa i enzima antioksidacione zaštite u kortikonuklearnim blokovima sočiva pacijenata tokom razvoja senilne katarakte.

Ispitivanje je izvršeno na kortikonuklearnim blokovima sočiva pacijenta sa početnom (N=41) i maturnom (N=60) senilnom kataraktom. Koncentracija konjugovanih diena je određivana spektrofotometrijski. Aktivnost superoksid dismutaze (SOD) određivana je metodom inhibicije autooksidacije adrenalina, glutation peroksidaze (GPx) pomoću kumulhidroperoksida kao supstrata, glutation reduktaze (GR) na osnovu smanjenja apsorbance NADPH na 340 nm, glutation S-transferaze (GST) praćenjem brzine formiranja konjugata glutationa i 1-hlor-2,4-dinitrobenzena na 340 nm.

U grupi ispitanika sa početnom kataraktom izmerena je značajno veća koncentracija konjugovanih diena u sočivu ( $2.55 \pm 0.89$  nmol/g,  $1.62 \pm 0.47$  nmol/g;  $p < 0.001$ ) u odnosu na maturnu. Verovatno da je na početku razvoja katarakte najintenzivniji proces peroksidacije lipida, koji je ili sam pokretač procesa kataraktogeneze ili iniciran stvaranjem reaktivnih kiseoničkih vrsta i da svojom propagacijom utiče na promene u sočivu. Ispitivanjem antioksidacionih enzima utvrđena je značajno veća aktivnost SOD ( $4.1 \pm 1.5$  U/g,  $2.1 \pm 0.9$  U/g;  $p < 0,001$ ), GPx ( $3.4 \pm 1.5$  U/g,  $2.2 \pm 1.0$  U/g;  $p < 0,001$ ), GR ( $3,0 \pm 1,3$  U/g,  $1.6 \pm 0.7$  U/g;  $p < 0,001$ ), kao i GST ( $2,4 \pm 1,1$  U/g,  $1.4 \pm 0.7$  U/g,  $p < 0,001$ ), u sočivima sa početnom kataraktom u odnosu na maturnu. Smanjena aktivnost glutation (GSH) zavisnih enzima može biti posledica smanjene količine raspoloživog GSH u sočivu.

Dobijeni rezultati ukazuju da se tokom razvoja senilne katarakte povećava koncentracija produkata lipidne peroksidacije i smanjuje aktivnost enzima antioksidacione zaštite u sočivu.

P 7

**PROMENE AKTIVNOSTI SUPEROKSID-DISMUTAZE I KATALAZE  
U NEKIM TKIVIMA SLATKOVODNE RIBE GRGEČA (*Perca fluviatilis*) KAO  
ODGOVOR NA CVETANJE CIJANOBakterIJA U GRUŽANSKOM JEZERU**

Branka Perendija<sup>1</sup>, Svetlana Despotović<sup>1</sup>, Jelena Gavrić<sup>1</sup>, Tijana Radovanović<sup>1</sup>,  
Slavica Borković-Mitić<sup>1</sup>, Slađan Pavlović<sup>1</sup>, Snežana Simić<sup>2</sup>, Branka Ognjanović<sup>2</sup>,  
Snežana B Pajović<sup>3</sup> i Zorica S Saičić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke "Vinča", Mike Petrovića Alasa 12-14, 11001 Beograd, Srbija.

U našoj studiji istraživali smo promene aktivnosti enzima zaštite od oksidacionih oštećenja: ukupne superoksid-dismutaze (Uk SOD), bakar, cink sadržavajuće superoksid-dismutaze (CuZnSOD), mangan sadržavajuće superoksid-dismutaze (MnSOD) i katalaze (CAT) u škragama i mišiću slatkovodne ribe grgeča (*Perca fluviatilis*) kao odgovor na cvetanje cijanobakterije *Aphanizomenon flos-aquae* u Gružanskom jezeru.

Takođe, ispitivana je koncentracija ukupnih proteina, kao i elektroforetska analiza proteina i SOD. Svi parametri određivani su tokom dva perioda, pre i za vreme cvetanja. Aktivnosti Uk SOD i MnSOD bile su niže i u škragama i u mišiću, dok je aktivnost CuZnSOD pokazala niže vrednosti u mišiću za vreme cvetanja u odnosu na period pre cvetanja. Aktivnost CAT bila je značajno veća u oba ispitivana tkiva tokom cvetanja. U mišiću je zabeleženo statistički značajno povećanje koncentracije ukupnih proteina za vreme cvetanja, dok je elektroforetska analiza proteina ukazala na razlike u profilu proteina u škragama i mišiću između dva ispitivana perioda. Elektroforetski profil enzima SOD pokazao je tipičan distribucioni obrazac SOD izoformi u oba tkiva.

Naš rad predstavlja prvu studiju o uticaju cvetanja cijanobakterija na aktivnost enzima zaštite od oksidacionih oštećenja superoksid-dismutaze i katalaze u škragama i mišiću slatkovodne ribe grgeča (*Perca fluviatilis*) iz Gružanskog jezera i ukazuje da cvetanje *Aphanizomenon flos-aquae* indukuje oksidacioni stres u ispitivanim tkivima. Ovo istraživanje daje osnovu za molekularno fiziološki biomonitoring uticaja cijanobakterija na različite slatkovodne organizme.

P 8

**ISPITIVANJE ANTIPROLIFERATIVNIH I ANTIOKSIDACIONIH  
SVOJSTAVA METANOLNIH EKSTRAKATA DOBIJENIH IZ LISTOVA  
I PLODOVA BILJKE *Ligustrum vulgare* L. NA HCT-116 ČELIJSKOJ LINIJI**

Danijela Cvetković, Milena Ćurčić, Dragana Đaćić, Milan Stanković  
i Snežana Marković

*Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Srbija.*

Cilj rada bio je ispitati efekat metanolnih ekstrakata dobijenih iz listova i plodova biljke *Ligustrum vulgare* L. na proliferaciju i prooksidacioni/antioksidacioni status HCT-116 ćelijske linije nakon 24 i 72 sata izloženosti ćelija ekstraktima.

U cilju dokazivanja antiproliferativnog efekta korišćen je MTT test citotoksičnosti. Takođe je određivan nivo nitrita ( $\text{NO}_2^-$ ) i produkcija superoksid anjon radikala ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) u ćelijama tretiranim različitim koncentracijama biljnih ekstrakata.

MTT test pokazuje da *L. vulgare* ima dobru antiproliferativnu aktivnost na HCT-116 ćelijskoj liniji. Citotoksičan efekat je izražen preko  $\text{IC}_{50}$  vrednosti (28.23  $\mu\text{g/ml}$  nakon 24 h i 64.64  $\mu\text{g/ml}$  nakon 72 h za metanolni ekstrakt dobijen iz listova biljke i 47.36  $\mu\text{g/ml}$  nakon 24 h i 108.04  $\mu\text{g/ml}$  nakon 72 h za metanolni ekstrakt dobijen iz plodova biljke). Rezultati merenja nivoa nitrita u ćelijama pokazuju da tretman ekstraktima u određenim koncentracijama izaziva statistički značajno smanjenje nivoa nitrita u poređenju sa netretiranom kontrolom, dok se nivo superoksid anjon radikala povećava u svim koncentracijama, ali bez statističke značajnosti nakon 24 i 72 sata.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da vrsta *L. vulgare* ispoljava snažnu antiproliferativnu aktivnost u *in vitro* uslovima i poseduje određena antioksidaciona svojstva, snižavanjem nivoa nitrita u ćeliji, kao i prooksidacionih svojstava, povećanjem produkcije superoksid anjon radikala.

P 9

## ULOGA GVOŽĐA U OKSIDACIONOM STRESU PACIJENATA NA HRONIČNOJ HEMODIJALIZI

Dijana Mirić i Bojana Kisić

*Medicinski fakultet, Priština, sedište u Kosovskoj Mitrovici, Srbija.*

Brojne studije pokazuju da pacijenti na hroničnoj hemodijalizi (HD) imaju povećane markere oksidacionog stresa tj. peroksidativne modifikacije lipida i proteina u cirkulaciji. Tačni razlozi nisu dovoljno poznati, premda gvožđe oslobođeno iz hemoglobina zbog učestalih mikrohemoliza može imati značajnu ulogu u inicijaciji i održavanju visokog nivoa oksidacionog stresa. U cirkulaciji je gvožđe vezano za transferin, a u tkivima za feritin, tako da je koncentracija serumskog feritina proporcionalna ukupnim zalihama gvožđa u organizmu. S obzirom da u uslovima potpunosti tkivnih depoa može doći do porasta i neproteinskog, labilnog pula gvožđa, cilj ovog rada je da ispita moguću ulogu preopterećenja gvožđem u oksidacionom stresu pacijenata na HD.

U okviru rutinske biohemijske kontrole pacijentima na HD (n=28), oba pola, starosti  $59.1 \pm 12.9$  godina, uzimani su uzorci krvi neposredno pre započinjanja HD. Koncentracije feritina, totalnih hidroperoksida (ROOH) kao ranog markera lipidne peroksidacije, kasnih produkata oksidacije proteina (AOPP) i nezasićeni kapacitet vezivanja gvožđa (UIBC), određivani su hemiluminescentnim, odnosno fotometrijskim metodama. U odnosu na koncentracije feritina formirane su 3 grupe ispitanika: I grupa ( $< 300 \mu\text{g/L}$ ; n = 6), II grupa ( $301 - 600 \mu\text{g/L}$ ; n = 6) i III ( $> 601 \mu\text{g/L}$ ; n = 16). Rezultati su testirani ANOVA i post hoc Studentovim t-testom; međusobna asocijacija varijabli je testirana Spirmanovim testom rang korelacije.

U grupi I nađene su najviše vrednosti UIBC ( $46.1 \pm 14.5 \mu\text{mol/L}$ ), koje su se recipročno vrednostima feritina ( $\rho = -0.744$ ;  $p < 0.001$ ), snižavale do  $25.7 \mu\text{mol}$  u III grupi ( $F=11.52$ ;  $p < 0.001$ ), potvrđujući da je serumski feritin direktna mera preopterećenja organizma gvožđem. Najniže vrednosti ROOH nađene su u grupi I ( $9.52 \pm 2.57 \mu\text{mol/L}$ ), koje su zatim uz postepen porast direktno proporcionalan serumskom feritinu ( $\rho = 0.642$ ;  $p < 0.001$ ) dostigle najviše vrednosti u grupi III ( $F= 5.31$ ;  $p = 0.012$ ). Za razliku od toga, koncentracija AOPP se nije značajnije menjala u odnosu na grupe ( $F = 0.180$ ;  $p > 0.05$ ), niti je postojala statistički značajna korelacija sa serumskim feritinom ( $\rho = -0.126$ ;  $p > 0.05$ ). Međutim, korelacionom analizom svih uzoraka dobijene su značajne asocijacije AOPP i UIBC ( $\rho = 0.425$ ;  $p < 0.05$ ), odnosno ROOH i UIBC ( $\rho = -0.433$ ;  $p < 0.05$ ), koje ukazuju na različite biohemijske mehanizme uključene u oksidativnu modifikaciju proteina, odnosno lipida.

Preopterećenje gvožđem verovatno predstavlja jedan od uzroka pojačane lipidne peroksidacije pacijenata na HD. Oksidativna modifikacija belančevina kod ovih pacijenata ima kompleksnije biohemijske mehanizme.

P 10

## EFEKTI VIBROAKUSTIČKI - INDUKOVANIH MIKROVIBRACIJA NA MARKERE OKSIDATIVNOG STRESA U KRVI PACOVA

Dragan Đurić<sup>1</sup>, Vladimir Živković<sup>2</sup>, Nevena Barudžić<sup>2</sup>, Mirjana Vuletić<sup>2</sup>  
i Vladimir Jakovljević<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Medicinski fakultet Univerziteta u Kragujevcu, Kragujevac, Srbija.

Vibroakustika je naučna oblast koja se intenzivno razvija u poslednjih 30 godina; koristi sposobnost zvuka (infrazvuk, ultrazvuk, buka i muzika) da indukuje vibracije, koje kao i zvuk, mogu imati štetna ili korisna dejstva. Vibroakustička terapija je dinamička grana medicine koja koristi pozitivne efekte zvukom - indukovanih vibracija (npr. muzikoterapija, pulsni, sinusoidalni tonovi niske frekvencije 20Hz-70Hz). Cilj ovog rada je bio da ispita efekte vibroakustički -indukovanih mikrovibracija na markere oksidativnog stresa u krvi pacova.

Eksperimenti su izvedeni na pacovima, mužjacima soja Wistar, telesne mase 180-200 g, podeljeni u kontrolnu i eksperimentalnu grupu (6 pacova u svakoj grupi). U eksperimentalnoj grupi mikrovibracije su izazivane vibroakustičkim aparatom (tzv. foniranje, *Vitafon, St. Petersburg, Ruska Federacija*) (ukupno vreme foniranja 60 min, u 4 različita režima aplikacije, vreme stabilizacije 5 min, svaki režim foniranja po 10 min sa pauzama između pojedinačnih režima od 5 min, opseg frekvencija 30Hz - 18000 kHz, amplituda mikrotalasa 2,8  $\mu\text{m}$ –12,3  $\mu\text{m}$ ). Po završetku eksperimentalnog protokola foniranja, životinje su žrtvovane, a u dobijenim uzorcima krvi analizirane su vrednosti markera oksidativnog stresa ( $\text{O}_2^*$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , nitriti, indeks lipidne peroksidacije, superoksid dismutaza, katalaza, glutation) i upoređivani sa dobijenim vrednostima markera u kontrolnoj grupi.

Rezultati su pokazali postojanje statistički visoko značajne razlike u vrednostima katalaze (kontrolna grupa  $32,04 \pm 4,98 \text{ U/g Hb} \times 10^3$  u poređenju sa eksperimentalnom grupom  $51,29 \pm 1,70 \text{ U/g Hb} \times 10^3$ ,  $p < 0,01$ ), dok u odnosu na druge analizirane parametre statistički značajne razlike nisu utvrđene iako je postojao pozitivni trend promena posle foniranja. Dalja istraživanja su neophodna da bi se utvrdili efekti niskih u odnosu na visoke frekvencije primenjenih vibroakustički - izazvanih mikrovibracija, kao i fiziološki, odnosno mogući terapijski značaj registrovanih efekata.

P 11

## UTICAJ AKUTNOG TOPLOTNOG STRESA NA MITOHONDRIJE ĆELIJA KORE NADBUBREŽNIH ŽLEZDA PACOVA

Dragana Petrović-Kosanović<sup>1</sup> i Vesna Koko<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Centar za elektronsku mikroskopiju, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija.

Kora nadbubrežnih žlezda izgrađena je iz tri zone: zone glomeruloza (ZG), zone fascikulata (ZF) i zone retikularis (ZR). Ranijim ispitivanjima je pokazano da pri izlaganju akutnom toplotnom stresu dolazi do redukcije kore nadbubrežne žlezde, naročito ZF, usled izbacivanja steroidnih hormona u obliku lipidnih kapi. S obzirom da je sinteza steroidnih hormona usko povezana sa mitohondrijama, cilj našeg istraživanja je bio ispitivanje dejstva akutnog toplotnog stresa na mitohondrije kore nadbubrežnih žlezda pacova.

Pacovi, mužjaci soja Wistar (*Rattus norvegicus*) bili su podeljeni u dve grupe od po šest životinja u svakoj. Životinje iz prve grupe su predstavljale kontrolu, dok su pacovi druge grupe izlagani temperaturi od 38 °C u komori u trajanju od 60 minuta. Uzorci desne nadbubrežne žlezde fiksirani su u 4% glutaraldehidu u 0.1 M fosfatnom puferu i zatim rutinski sprovedeni za elektronsku mikroskopiju. Polutanki preseći su sečeni na Leica ultramikrotomu i bojeni toluidin plavim, kako bi se identifikovale zone kore nadbubrežne žlezde. Ultratanki preseći su bojeni uranil acetatom i olovo citratom i zatim posmatrani pod CM 12 Philips elektronskim mikroskopom.

Rezultati ispitivanja su pokazali da je volumenska gustina mitohondrija u ćelijama ZG i ZF bila statistički značajno povećana nakon toplotnog stresa, kao i broj mitohondrija po ćeliji i po jedinici površine u ZG. Ispitivani parametri se nisu značajnije promenili u ćelijama ZR.

Rezultati dobijeni na ultrastrukturnom nivou su pokazali da su mitohondrije ćelija kore nadbubrežnih žlezda različito reagovala na stres toplotom. To je u skladu sa ranijim ispitivanjima koja su pokazala da ćelije specifičnih zona kore ispoljavaju individualne reakcije na stresor usled postojanja različitih mehanizama regulacije unutar njih.

P 12

**MOLEKULSKA OSNOVA OKSIDATIVNOG METABOLIZMA U  
MONONUKLEARNIM ČELIJAMA PERIFERNE KRVI PACIJENATA ZA  
POTREBE AUTOLOGNE TRANSPLATACIJE KOD RAZLIČITIH VRSTA  
KANCERA**

Emilija Lazić<sup>1</sup>, Dragana Vujić<sup>1</sup>, Ana Stančić<sup>2</sup>, Aleksandra Janković<sup>2</sup>, Vesna Otašević<sup>2</sup>,  
Milica Vučetić<sup>2</sup>, Biljana Buzadžić<sup>2</sup>, Aleksandra Korać<sup>3</sup>, Milica Markelić<sup>3</sup>,  
Ksenija Veličković<sup>3</sup>, Igor Golić<sup>3</sup> i Bato Korać<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institut za zdravstvenu zaštitu majke i deteta Srbije Dr Vukan Čukić, 11000, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;*

<sup>3</sup>*Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija.*

Faktor rasta granulocitnih kolonija (*engl.* granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF) široko se primenjuje u terapiji kancera u cilju mobilizacije matičnih ćelija hematopoeze iz periferne krvi (tj. mononuklearnih ćelija periferne krvi, MNPK) za potrebe autologne transplantacije kod pacijenata sa kancerom. Pokazano je da je mobilizacija MNPK, njihova diferencijacija i antikancerska aktivnost praćena promenama u metabolizmu supstrata i redoks statusa. Cilj ove studije bio je da se ispita ekspresioni profil molekula uključenih u metabolizam glukoze, lipida i reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) u MNPK pacijenata sa solidnim timorima (Neuroblastom i Juingov sarkom) i tumorima krvi (Hočkin i Non-Hočkin limfom) nakon administracije G-CSF.

Nivo proteina za piruvat dehidrogenazu, gliceraldehid-3-fosfat dehidrogenazu i acil-CoA dehidrogenazu veći je u MNPK pacijenata sa tumorom i G-CSF terapijom nego u kontroli. Takođe, kod pacijenata je zabeležen veći proteinski nivo za kompleks I, III i IV i ATP sintazu kao i NADPH oksidazu (NOX) i antioksidativne enzime, mangan superoksid dismutazu i katalazu. Nivo proteina za interleukin-6 veći je kod pacijenta sa G-CSF terapijom, sugerišući funkcionalnu aktivaciju monocita.

Na osnovu zapažene ekspresione aktivacije ključnih molekula metabolizma glukoze i lipida može se zaključiti da MNPK pacijenata sa različitim tipovima kancera tretiranim G-CSF imaju veće metaboličke zahteve u poređenju sa kontrolom. Intenziviran metabolizam supstrata u MNPK navedenih pacijenata povezan je sa povećanom produkcijom ROS sudeći po većoj ekspresiji kompleksa respiratornog lanca i NOX kao i veće ekspresije antioksidativnih enzima. Ispitivanje veze izmenjenog metaboličkog profila MNPK kod pacijenata sa kancerom tretiranih G-CSF i njihove funkcionalne mobilizacije i aktivacije u terapeutske svrhe jeste cilj budućih istraživanja.

P 13

**AZOT-MONOKSID INHIBIRA EKSPRESIJU GENA ZA CXCL12  
U ČELIJAMA MALIH KRVNIH SUDOVA KIČMENE MOŽDINE  
I ASTROCITIMA PACOVA**

Filip Petković<sup>1</sup>, Miljana Momčilović<sup>1</sup>, Jana Blaževski<sup>1</sup>, Marija Mostarica Stojković<sup>2</sup>  
i Đorđe Miljković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija.*

Azot-monoksid (NO) proizveden posredstvom inducibilne sintaze azot-monoksida (iNOS) ima izuzetno značajnu ulogu u imunskom odgovoru u kome učestvuje kao efektorski i/ili kao regulatorni molekul. Tokom inflamacije u centralnom nervnom sistemu (CNS) dolazi do oslobađanja NO koji može ostvariti jak destruktivni efekat na ćelije i komponente ovog sistema. CXCL12 je hemokin za koji je pokazano da ima ključnu antiinflamatornu ulogu u eksperimentalnom autoimunskom encefalomijelitisu (EAE), životinjskom modelu neuroinflamatorne bolesti multiple skleroze, ali su mehanizmi koji regulišu njegovu ekspresiju i produkciju nedovoljno istraženi. U tom smislu, naš cilj je bio da ispitamo uticaj NO na ekspresiju gena za CXCL12 u malim krvnim sudovima kičmene moždine i astrocitima, kao glavnim producentima ovog hemokina u CNS-u.

EAE je indukovano u pacovima homogenatom kičmene moždine i adjuvansom. Iz imunizovanih pacova izolovane su kičmene moždine, a iz njih homogenati u kojima je određivana ekspresija iNOS i CXCL12. Mali krvni sudovi i astrociti izolovani iz kičmenih moždina neimunizovanih pacova su stimulisani proinflamatornim citokinima i tretirani natrijum-nitroprusidom, donorom NO. Količina oslobođenog NO u supernatantima ćelijskih kultura je merena Griess-ovom reakcijom. Za određivanje ekspresije gena je korišćen "real time" PCR. Pokazalo se da postoji negativna korelacija ekspresije gena za iNOS i CXCL12 u homogenatima kičmenih moždina imunizovanih pacova. Takođe, utvrđeno je da u *in vitro* uslovima NO inhibira ekspresiju gena za CXCL12 u malim krvnim sudovima i astrocitima.

Na osnovu ovih rezultata može se zaključiti da prekomerna produkcija NO tokom neuroinflamacije može da bude ključan faktor koji dovodi do inhibicije ekspresije CXCL12 u ćelijama CNS-a i time do ograničavanja regulatornog dejstva ovog hemokina u EAE i MS.

*Ovaj rad je finansiran od strane MPN Republike Srbije (175038, 173035 i 173013).*



**P 14**

**MITOHONDRIOGENEZA I REMODELIRANJE MITOHONDRIJALNIH PULOVA  
U KARDIOMIOCITIMA PACOVA POD UTICAJEM AZOT MONOKSIDA  
I HLADNOĆE**

Igor Golić<sup>1</sup>, Ana Stančić<sup>2</sup>, Vesna Otašević<sup>2</sup>, Aleksandra Janković<sup>2</sup>, Milica Vučetić<sup>2</sup>,  
Milica Markelić<sup>1</sup>, Ksenija Veličković<sup>1</sup>, Biljana Buzadžić<sup>2</sup>, Bato Korać<sup>2</sup> i Aleksandra Korać<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd, Srbija.

U poslednjih nekoliko godina, veliki napredak je učinjen u pravcu razumevanja uloge azot monoksida (NO) u ishemijskoj biologiji srca. Sada je jasno da azot monoksid, bilo endogenog ili egzogenog porekla, predstavlja važnu odbranu od ishemijsko-reperfuzijskog oštećenja miokarda i da svoje delovanje ostvaruje na mitohondrijama kardiomiocita. Mitohondriogeneza kao kompleksan, specifičan ćelijski proces koji uključuje i podelu i funkcionalna diferencijaciju mitohondrija, regulisana je brojnim endokrinim i autokrinim faktorima. U želji da proučimo uticaj azot monoksida i hladnoće na ultrastrukturu mitohondrija kardiomiocita, ispitivali smo efekat L-arginin-NO-produkujućeg puta u srcu pacova.

Mušjaci Mill Hill soja pacova su bili podeljeni u tri grupe. Prva grupa je dobijala L-arginin • HCl (2.25%), supstrat za NO sintaze, a druga N<sup>ω</sup>-nitro-arginin metil estar (L-NAME) • HCl, (0,01%), inhibitor NO sintaza u vodi za piće, za 45 dana. Treća, netretirana grupa je služila kao kontrola. Životinje sve tri grupe su držane na hladnoći (4 ± 1 °C). Životinje su držane u pojedinačnim kavezima, sa hranom i vodom *ad lib*, a svaka eksperimentalna grupa se sastojala od šest životinja. Odmah nakon uzimanja, uzorci leve komore srca pacova sečeni su na male komade, fiksirani u 2,5% glutaraldehidu u 0.1M fosfatnom puferu (pH 7,2), a postfiksirani u 2% osmijum tetrokidu, u istom puferu. Uzorci su zatim dehidrisani i ukalupljeni u Araldit. Blokovi tkiva su sečeni dijamantskim noževima na UC6 ultramikrotomu. Polu-tanki preseći su bojeni toluidin plavim, a tanki preseći kontrastirani uranil acetatom/olovo citratom, i posmatrani na Philips CM12 elektronskom mikroskopu.

U kardiomiocitima životinja tretiranih L-argininom jasno se uočavaju ultrastrukturne promene mitohondrijalne populacije, naime povećanje broja mitohondrija u oba pula, sarkolemalnom i subsarkolemalnom. Nasuprot tome, L-NAME tretman je doveo do neznatnog povećanja broja mitohondrija samo u sarkolemalnom pulu. Takođe, gustina mitohondrija, mitohondrijalnih krista kao i matriksa značajno je promenjena.

Dobijeni rezultati ukazuju da je efekat NO na mitohondrije kardiomiocita povoljan, da povećava oksidativni kapacitet i bioenergetiku ovih ćelija. To je u saglasnosti sa podacima iz literature koji ukazuju da NO donori ostvaruju neposredne zaštitne efekte protiv raznih poremećaja u kardiovaskularnom sistemu. Nefunkcionalno srce metabolički se karakteriše povećanim oksidativnim stresom, poremećenim funkcijama mitohondrija i izmenjenim energetskim metabolizmom. Naši rezultati pokazuju da se produkcija azot monoksida L-arginin suplementacijom dodatno poboljšava aklimacijom na hladnoću, i da delujući zajedno, ostvaruju pozitivno dejstvo na mitohondriogenezu i remodeliranje mitohondrija u kardiomiocitima pacova. Povećanje mitohondrijalne NO dostupnosti u kombinaciji sa krioprezervacijom srca mogu biti od terapijskog značaja.

P 15

**CITOTOKSIČNOST FENCIKLIDINA NA C6 ĆELIJE GLIOMA PACOVA JE POSREDOVANA POVEĆANJEM PRODUKCIJE SLOBODNIH KISEONIČNIH RADIKALA, *in vitro***

Ivica Jeremić<sup>1,2</sup>, Aleksandra Isaković<sup>2</sup>, Marija Dulović<sup>2</sup>, Ivanka Marković<sup>2</sup>,  
Nevena Radonjić<sup>2</sup>, Vladimir Trajković<sup>3</sup> i Nataša Petronijević<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Institut za reumatologiju, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup> *Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija;*

<sup>3</sup> *Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija.*

Fenciklidin (PCP) je nekompetitivni antagonist NMDA receptora, koji se dugi niz godina koristi u eksperimentalnim modelima shizofrenije. Većina dosadašnjih radova, razmatra uticaj PCP-a na neurone, dok je njegov uticaj na ćelije glioma nedovoljno poznat. Cilj ovog istraživanja je bio da se ispita citotoksičan efekat PCP-a na ćelije C6 glioma pacova.

Kao eksperimentalni model u ovom radu je korišćena C6 ćelijska linija koja je održavana pod standardnim uslovima (37 °C, 5%CO<sub>2</sub>). Ispitivanje vijabiliteta ćelija je izvedeno nakon 24h inkubacije ćelija sa dvostruko opadajućim razblaženjima PCP-a primenom kristal violet (CV) i MTT testa. Primenom protočne citometrije je merena produkcija slobodnih kiseoničnih radikala (korišćenjem dihidrorodamina, DHR), promena mitohondrijalnog potencijala (korišćenjem JC-1 fluorohroma) kao i dokazivanje prisustva autofagije (akridin oranž bojenje).

Pri inkubaciji C6 ćelija sa PCP-om je došlo do dozno zavisnog smanjenja vijabiliteta ćelija, merenog CV testom, pri čemu je najveće smanjenje vijabiliteta na 65% u odnosu na kontrolu (netretirane ćelije) postignuto pri 24h inkubaciji sa 800μM PCP-a. Međutim, vrednosti vijabiliteta dobijene primenom MTT testa su bile statistički značajno veće u odnosu na vrednosti dobijene primenom CV testa, a za iste primenjene koncentracije PCP-a što sugeriše na mogućnost da PCP deluje na unutrašnju mitohondrijalnu membranu tako što razdvaja oksidativnu fosforilaciju od sinteze ATP-a. Već nakon 90 minuta inkubacije došlo je do dozno zavisne depolarizacije mitohondrija, koja se potpuno inhibira ciklosporinom A, a delimično N-acetil cisteinom-NAC (antioksidans). Pad mitohondrijalnog potencijala koincidira sa povećanjem produkcije slobodnih kiseoničnih radikala i pojavom većeg broja acidofilnih vezikula (lizozomi/autofagolizozomi) što je dokazano pozitivnim akridin oranž bojenjem (protočna citometrija).

Ovi rezultati upućuju na zaključak da je citotoksičnost fenciklidina na C6 ćelije glioma posredovana povećanom produkcijom slobodnih kiseoničnih radikala koja koincidira sa promenom mitohondrijalnog membranskog potencijala.

P 16

## BETULINSKA KISELINA STIMULIŠE ASTROCITOME C6 I U251 NA PRODUKCIJU REAKTIVNIH VRSTA KISEONIKA

Jana Blaževski<sup>1</sup>, Filip Petković<sup>1</sup>, Miljana Momčilović<sup>1</sup>, Goran Kaluđerović<sup>3</sup>,  
Reinhard Paschke<sup>3</sup>, Marija Mostarica Stojković<sup>2</sup> i Đorđe Miljković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Biozentrum, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Nemačka.

Betulinska kiselina (BK) je biljni triterpenoid koji se pokazao efikasan kao antimikrobni, antiinflamatorni i antitumorski agens. Njegovo antitumorsko dejstvo je posebno izraženo protiv leukemija i tumora neuroektodermnog porekla, uključujući gliome. Smatra se da je antitumorsko dejstvo BK velikim delom posredovano remećenjem oksido-redukcionog balansa u tumorskim ćelijama. U tom smislu je naš cilj bio da se ispita uticaj BK na vijabilitet ćelijskih linija astrocitoma C6 i U251 i na produkciju reaktivnih kiseoničnih vrsta u *in vitro* uslovima.

Za određivanje vijabiliteta ćelijskih linija korišćeni su Kristal violet test, koji određuje broj adherentnih ćelija i MTT test, koji određuje aktivnost reduktaza u ćelijama. Produkcija slobodnih kiseoničnih vrsta određivana je protočnim citofluorimetrom uz pomoć dihidroksi rodamina (DHR).

BK je pokazala intenzivan negativan uticaj na vijabilitet astrocitoma meren MTT testom i daleko slabiji uticaj ukoliko je za određivanje vijabiliteta korišćen kristal violet test. Ovo je ukazalo da promena u aktivnosti reduktaza prethodi samom ubijanju ćelija astrocitoma, odnosno da dolazi do disbalansa između oksidativnih i reduktivnih procesa u ovim ćelijama. U skladu sa rezultatima MTT testa, bojenje ćelija DHRom je pokazalo da BK stimuliše ćelije astrocitoma da prave reaktivne vrste kiseonika. Ova produkcija je bivala smanjena primenom inhibitora PTK i ERK signalnih kaskada, AG490 i PD98059.

Ovi rezultati ukazuju da BK smanjuje vijabilitet ispitivanih astrocitomskih linija *in vitro* izazivajući intenzivnu generaciju slobodnih vrsta kiseonika posredstvom aktivacije signalnih puteva zavisnih od PTK i ERK.

*Ovaj rad je finansiran od strane MPN Republike Srbije (173035 i 173013). Autori se zahvaljuju BioSolutions GmbH Halle, Nemačka za BK.*

**P 17**

**SILICIJUM STIMULIŠE NASTANAK ASKORBIL RADIKALA U APOPLASTU LISTOVA KRSTAVCA IZLOŽENOG STRESU TOKSIČNOSTI MANGANA**

Jelena Dragišić Maksimović<sup>1</sup>, Miloš Mojović<sup>2</sup>, Vuk Maksimović<sup>1</sup> i Miroslav Nikolić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut za multidisciplinarna istraživanja, Kneza Višeslava 1, 11000 Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu, Studentski trg 12, 11000 Beograd, Srbija.*

U ovom radu ispitivan je efekat silicijuma na pojavu askorbil radikala u tečnosti apoplasta listova krastavca gajenog u uslovima toksičnih koncentracija mangana (100  $\mu\text{M}$ ). Naša ranija istraživanja pokazala su da silicijum ublažava posledice toksičnosti mangana tako što utiče na povećano vezivanje mangana za ćelijski zid. Istovremeno dolazi do smanjivanja koncentracije slobodnog mangana ( $\text{Mn}^{2+}$ ) i stoga redukovanog stvaranja hidroksil radikala putem Fentonove reakcije u apoplastu. Fenomen silicijumom stimulisane produkcije askorbil radikala u apoplastu lista krastavca izloženog stresu toksičnosti mangana po prvi put je eksperimentalno pokazan.

Askorbil radikali detektovani su u tečnosti apoplasta lista pomoću elektronske paramagnetne rezonance (EPR). Askorbat oksidaza (AO) je enzim lokalizovan u apoplastu koji katalizuje redukciju molekularnog kiseonika do vode, uz istovremenu oksidaciju supstrata askorbinske kiseline (AK) formiranjem askorbil radikala kao intermedijera. Povećana aktivnost AO u apoplastu listova detektovana je kod biljaka tretiranih silicijumom, dok se kod kontrolnih biljaka (gajenih bez silicijuma) smanjena aktivnost ovog enzima može koristiti kao biohemijski indikator toksičnosti mangana. Pored AK, *o*-difenolne funkcionalne grupe takođe mogu učestvovati u ovoj reakciji kao donori elektrona.

S obzirom da silicijum može da učestvuje u polifenolnom metabolizmu tokom procesa lignifikacije ćelijskog zida, povećanje intenziteta EPR signala askorbil radikala u prisustvu silicijuma može biti posledica učešća akumuliranih fenolnih jedinjenja u apoplastu lista kao dominantnih donora elektrona u pomenutoj reakciji.

P 18

### BIOMARKERI OKSIDACIONOG STRESA U NEKIM TKIVIMA SLIKARSKE ŠKOLJKE (*Unio pictorum*) IZ DUNAVA I TISE

Jelena Gavrić<sup>1</sup>, Svetlana Despotović<sup>1</sup>, Branka Perendija<sup>1</sup>, Tijana Radovanović<sup>1</sup>,  
Slavica Borković-Mitić<sup>1</sup>, Slađan Pavlović<sup>1</sup>, Momir Paunović<sup>2</sup> i Zorica S Saičić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za hidroekologiju i zaštitu voda, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Biomarkeri oksidacionog stresa predstavljaju značajne pokazatelje oksidacionog stresa uzrokovanog raznim zagađivačima, kao i drugim promenama u životnoj sredini. Povećanje ili smanjenje aktivnosti enzima sistema zaštite od oksidacionih oštećenja dovodi do narušavanja prooksidaciono/antioksidacione ravnoteže i može da bude značajan biomarker štetnog uticaja različitih sredinskih faktora.

U našoj studiji određivali smo aktivnosti biomarkera oksidacionog stresa: superoksid-dismutaze (SOD), katalaze (CAT), glutation-peroksidaze (GSH-Px), glutation-raduktaze (GR) i enzima faze II biotransformacije glutation-S-transferaze (GST) u stopalu, škragama i visceralnoj masi slikarske školjke *Unio pictorum*, izlovljene na rekama Dunav (lokalitet Orešac) i Tisa (lokalitet Ada). Takođe, određivan je i sadržaj glutaciona (GSH) u tkivu stopala.

Dobijeni rezultati pokazuju da su aktivnosti CAT, GSH-Px i GST statistički značajno povećane u svim ispitivanim tkivima školjki iz reke Tise u odnosu na Dunav. Aktivnost SOD bila je statistički značajno povećana samo u stopalu na reci Tisi. Nije zabeležena promena u aktivnosti GR ni u jednom od ispitivanih tkiva školjki iz dve reke. Koncentracija GSH u stopalu značajno je veća u školjkama iz Tise u odnosu na Dunav.

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je povećanje vrednosti biomarkera oksidacionog stresa u svim ispitivanim tkivima školjke *U. pictorum* iz reke Tise u odnosu na Dunav fiziološki odgovor organizma na razlike u sredinskim faktorima ova dva rečna ekosistema, posebno na prisustvo različitih koncentracija zagađivača u reci Tisi. Takođe smo konstatovali da se CAT, GSH-Px i GST, kao i GSH karakterišu specifičnim ćelijskim odgovorom na ekosistemske promene. Karakteristike školjki kao što su sedentarni način života, ishrana filtracijom, mogućnost akumulacije i koncentracije polutanata čine ih veoma pogodnim bioindikativima za molekularno fiziološki biomonitoring.

P 19

## ANTIOKSIDATIVNA ZAŠTITA OD KURATIVNIH I PALIJATIVNIH DOZA JONIZUJUĆEG OZRAČIVANJA U KRVI ŽENA TOKOM STARENJA

Jelena Kasapović<sup>1</sup>, Vesna Stojiljković<sup>1</sup>, Ljubica Gavrilović<sup>1</sup>, Snežana Pejić<sup>1</sup>,  
Nataša Popović<sup>1</sup>, Snežana B Pajović<sup>1</sup> i Zorica S Saičić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Mike Petrovića Alasa 12-14, 11001 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Ispitivani su efekti *in vitro*  $\gamma$ -ozračivanja na aktivnost antioksidativnih (AO) enzima: bakar, cink superoksid dismutaze (CuZnSOD), katalaze (CAT), glutation peroksidaze (GPx), glutation reduktaze (GR) i koncentraciju glutationa (GSH) u krvi zdravih žena tokom starenja.

Uzorci krvi 54 ispitanica, podeljenih u tri starosne grupe, su ozračivani dozama od 2 Gy ili 9 Gy jednokratnog  $\gamma$ -zračenja, reprezentativnim za dnevne kliničke doze u kurativnoj i palijativnoj radioterapiji. AO parametri su mereni biohemijskim analizama.

Rezultati pokazuju da se AO kapacitet za detoksifikaciju  $O_2^{\cdot-}$  i  $H_2O_2$  u odgovoru na 2 Gy  $\gamma$ -ozračivanja smanjuje kod žena starijih od 58 godina, zbog smanjenja aktivnosti CuZnSOD, CAT, GPx i GR. AO kapacitet za detoksifikaciju  $O_2^{\cdot-}$  i  $H_2O_2$  u odgovoru na 9 Gy  $\gamma$ -ozračivanja pokazuje znake smanjenja posle 45 godina starosti, usled izrazitijeg smanjenja aktivnosti CuZnSOD, CAT i GPx.

Rezultati ukazuju da se citotoksični sporedni efekti kurativne i palijativne radioterapije, posredovani reaktivnim vrstama kiseonika, mogu povećati u krvi starijih individua, zbog supresije AO sistema usled starenja. Uklanjanje viška  $H_2O_2$  moglo bi da redukuje ove neželjene efekte.

P 20

## PROTEKTIVNI EFEKTI ESTRADIOLA NA KADMIJUM INDUKOVANU AKTIVNOST NEUTROFILA

Jelena M Mladenović<sup>1</sup>, Miloš M Matić<sup>1</sup>, Nataša Z Đorđević<sup>1</sup>, Veroljub Knežević<sup>2</sup>,  
Andraš Š Štajn<sup>1</sup>, Branka I Ognjanović<sup>1</sup> i Zorica S Saičić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>2</sup>Odeljenje za laboratorijsku dijagnostiku "Dom zdravlja Kragujevac", Kralja Milutina 1, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Kadmijum (Cd) pripada grupi teških metala i prisutan je u životnoj sredini kao industrijski zagađivač. Toksičnost Cd se zasniva na povećanoj produkciji reaktivnih vrsta kiseonika (ROS), što rezultira oksidacionim oštećenjima ćelija. Podaci u literaturi ukazuju na proinflatorne efekte Cd. Estradiol je ženski polni hormon sa velikim antioksidacionim potencijalom zahvaljujući postojanju hidroksilne grupe na A prstenu steroidnog jezgra. U ovom radu proučavan je antioksidacioni efekat estradiola u kadmijum indukovanoj produkciji ROS u neutrofilima pacova.

Mušjaci pacova *Wistar albino* (stari 8 nedelja, telesne mase 200-220 g) su podeljeni u 4 grupe, kontrolna i 3 eksperimentalne injecirane pojedinačnom dozom: 1) CdCl<sub>2</sub> (2 mg/kg t.m., i.p., 24h pre žrtvovanja), 2) 17-β estradiola (4 mg/kg t.m., i.p., 24h pre žrtvovanja), 3) CdCl<sub>2</sub>+17-β estradiola (2mg CdCl<sub>2</sub>/kg t.m., i.p., 48h + 4mg 17-β estradiola/kg t.m., i.p., 24h pre žrtvovanja). Broj leukocita je određen u punoj krvi. Neutrofili su izolovani i zasejani u mikrotitar ploču sa 96 otvora (10<sup>6</sup> ćelija/otvoru). Produkcija O<sub>2</sub><sup>-</sup> i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u izolovanim neutrofilima određena je na ELISA čitaču i izražena kao OD/10<sup>6</sup> ćelija (optical density).

Dobijeni rezultati pokazuju da je broj leukocita značajno povećan u svim eksperimentalnim grupama: kod životinja tretiranih Cd, estradiolom, i u grupi tretiranoj Cd i estradiolom u poređenju sa kontrolnom grupom. Produkcija superoksid anjon radikala (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) i vodonik peroksida (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) povećana je u neutrofilima životinja tretiranih Cd, dok je kod životinja tretiranih Cd i estradiolom značajno smanjena u poređenju sa kontrolom i grupom tretiranom Cd.

Iz naših rezultata može da se zaključi da smanjena produkcija O<sub>2</sub><sup>-</sup> i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ukazuje na antioksidaciono delovanje estradiola i njegovu citoprotektivnu ulogu.

P 21

**POVEZANOST GLUTATION S-TRANSFERAZE M1\*0 GENOTIPA  
SA VISOKIM STEPENOM OKSIDATIVNOG OŠTEĆENJA DNK  
KOD BOLESNIKA SA KARCINOMOM MOKRAĆNE BEŠIKE**

Jovana Jakovljević, Tatjana Đukić, Ana Savić-Radojević, Marija Matić, Marija Plješa-  
Ercegovac, Sonja Šuvakov, Vesna Ćorić i Tatjana Simić

*Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet  
Dr Subotića 8, 11000 Beograd, Srbija.*

Epidemiološke studije su pokazale da izloženost potencijalnim kancerogenima predstavlja etiološki faktor u 60-70% karcinoma mokraćne bešike (KMB). Glutation S-transferaza (GST) M1 je pripadnik GST familije, koju čine enzimi uključeni u detoksikaciju potencijalnih kancerogena i produkata oksidativnog stresa. Kod osoba kod kojih postoji homozigotna delecija *GSTM1* alela (*GSTM1\*0* genotip), nedostaje enzimski aktivnost *GSTM1* što može imati za posledicu povećano oštećenje molekula DNK. Cilj ove studije bio je da se ispita ulogu polimorfizma *GSTM1* gena u nastanku karcinoma mokraćne bešike, kao i povezanost polimorfizma *GSTM1* i oksidativnog oštećenja molekula DNK kod bolesnika sa karcinomom mokraćne bešike.

U studiju slučajeva i kontrola bilo je uključeno 80 bolesnika sa karcinomom mokraćne bešike i 60 zdravih ispitanika koji su činili kontrolnu grupu. Polimorfizam *GSTM1* je određivan reakcijom lančanog umnožavanja. Stepenn oksidativnog oštećenja DNK je meren preko nivoa 8-hidroksideoksiguanozina (8-OHdG) koji je određivan u uzorku urina korišćenjem ELISA kita. Procenjivan je i uticaj pušenja i profesionalne izloženosti na stepen oštećenja DNK.

Razlika u distribuciji *GSTM1\*0* i *GSTM1* aktivnog genotipa između kontrolne grupe i bolesnika sa KMB nije bila statistički značajna. Kod bolesnika sa KMB sa *GSTM1\*0* genotipom nivo 8-OHdG bio je dvostruko viši nego kod bolesnika sa *GSTM1* aktivnim genotipom ( $p=0.002$ ). Povezanost koncentracije 8-OHdG sa profesionalnom izloženošću ili pušenjem nije bila statistički značajna ( $p=0.097$ ,  $p=0.446$ ) kod bolesnika sa KMB.

Distribucija *GSTM1\*0* genotipa u kontrolnoj grupi odgovara očekivanoj učestalosti tog genotipa u populaciji belaca. Kod bolesnika postoji značajna povezanost *GSTM1\*0* genotipa i stepena oksidativnog oštećenja DNK.



P 22

**OKSIDATIVNI STRES KAO ODGOVOR NA EFEKAT CISPLATINE I BUTIL I PENTIL ESTARA (S,S)-ETILENDIAMIN-N,N'-DI-2-PROPANSKE KISELINE I ODGOVARAJUĆIH PLATINA (IV) KOMPLEKSA NA ČELIJSKE LINIJE HUMANOG KARCINOMA HCT-116 I MDA-MB-231**

Jovana Žižić, Ana Obradović, Anika Radulović, Verica Glođović, Gordana Radić, Srećko Trifunović i Snežana Marković

*Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija.*

Cisplatina (cisPt) je jedan od najčešće korišćenih lekova koji se primenjuje u hemoterapiji najrazličitijih vrsta kancera. Mnoga istraživanja danas ukazuju na to da pored dobrih terapijskih rezultata u visokim dozama ovaj lek izaziva mnoga neželjena dejstva kod pacijenata. Cilj ovog istraživanja je da utvrdi da li cisPt i novosintetisani platina (IV) kompleksi utiču na uzrokovanje oksidativnog stresa u ćelijskim linijama kolon kancera HCT-116 i kancera dojke MDA-MB-231, kao bitne parametre pri ispitivanju kako citotoksičnih tako i neželjenih dejstava leka.

HCT-116 i MDA-MB-231 ćelije su gajene u kompletnom medijumu, DMEM-u sa 10% FBS-om, 100 jedinica/ml penicilina i 100 mg/ml streptomocina u vlažnoj atmosferi sa 5% CO<sub>2</sub> na 37 °C. Ćelije su rasle u flasku od 75 cm<sup>2</sup>, a nakon nekoliko pasaža, po 500 000 ćelija po bunariću je zasejano u ploču sa 6 bunarića. Ćelije su 24 sata nakon zasejavanja tretirane sa 100 μM ratvorima cisplatine (cisPt) i kompleksima platine (IV) [Pt(db-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>] i [Pt(dp-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>]. U medijumu, u kome su rasle ćelije, 24 časa nakon tretmana vršena je ekstrakcija i određivana je koncentracija superoksid anjon radikala (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), lipidnih peroksida (TBARS), redukovanog i oksidovanog glutationa (GSH i GSSG, respektivno) i proteina spektrofotometrijski.

Rezultati pokazuju da je ćelijska linija kolon kancera HCT-116 znatno osetljivija na dejstvo cisPt i kompleksa platine (IV) u odnosu na MDA-MB-231 ćelijsku liniju kancera dojke, jer se u HCT-116 ćelijama javlja izraziti oksidativni stres kao odgovor na cisplatinu i [Pt(dp-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>], usled dvostrukog povećanja koncentracije lipidnih peroksida i superoksid anjon radikala, a ovi parametri ukazuju i na visoku citotoksičnost koja se javlja u ovim ćelijama.

Na osnovu poređenja dejstava cisPt i platina (IV) kompleksa može se zaključiti da dejstvo [Pt(db-(S,S)-eddp)Cl<sub>4</sub>] najmanje narušava redoks i oksidativni status ćelija kolon kancera HCT-116 i kancera dojke MDA-MB-231.

**P 23**

**PROMENE BIOHEMIJSKIH I METABOLIČKIH PARAMETARA  
U KRVI PACOVA AKUTNO TRETIRANIH OLOVOM**

Katica Kosanović<sup>1</sup> i Zorica S Saičić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Prištini, Kosovska Mitrovica, Prirodno-matematički fakultet, Lole Ribara 29, 38220 Kosovska Mitrovica, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar Despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Toksično dejstvo olova može izazvati poremećaj većeg broja metaboličkih reakcija u organizmima različitih stupnjeva telesne organizacije i doba starosti i takve promene se mogu koristiti kao bioindikator ranog zagađenja.

U našoj studiji ispitivali smo efekat olova prateći promene biohemijskih i metaboličkih parametara u krvi pacova posle akutne intoksikacije olovom. U eksperimentima su korišćeni adultni albino pacovi, oba pola, soja *Wistar*, telesne mase od 190-260 g, podeljeni za svaki ispitivani parametar u dve grupe: kontrolnu i akutno tretiranu olovoacetatom u dozi od 100 mg/kg t.m., i.p. 45 minuta pre žrtvovanja. Sve životinje su hranjene standardnom laboratorijskom smešom *ad libitum*.

Dobijeni rezultati pokazuju da jednokratna primena olovoacetata u dozi od 100 mg/kg t.m., i.p. (subletalna doza) izaziva statistički značajne promene biohemijskih i metaboličkih parametara: povećanje aktivnosti alanin-aminotransferaze (ALT) i aspartat-aminotransferaze (AST) u serumu, kao i katalaze (CAT) u krvi u poređenju sa kontrolnim životinjama tretiranim samo fiziološkim rastvorom. Zabeleženo je i statistički značajno povećanje koncentracije glukoze u krvi, pad koncentracije ukupnih lipida, holesterola i ukupnih proteina u serumu, dok je vreme koagulacije krvi značajno skraćeno.

Dobijeni rezultati ukazuju na zaključak, da oksidacioni stres izazvan olovom dovodi do promene u metabolizmu ugljenih hidrata, masti i belančevina. Promene se ispoljavaju u pojavi hiperglikemije, smanjenom sadržaju masti i belančevina i povećanju aktivnosti ALT, AST i CAT u krvi pacova. Kako ove promene nastaju vrlo brzo (45 min posle primene olova), to se biohemijska indikacija zagađenja, kao jedna od najranijih indikacija trovanja organizma, može koristiti za biohemijski monitoring u cilju detekcije nastalih patoloških promena.

**P 24**

**ESPRESIJA UCP1 U MITOHONDRIJAMA MRKIH ADIPOCITA HUMANOG FETUSA**

Ksenija Veličković<sup>1</sup>, Igor Golić<sup>1</sup>, Milica Markelić<sup>1</sup>, Biljana Srđić<sup>2</sup>, Edita Stokić<sup>2</sup>,  
Vesna Otašević<sup>3</sup>, Ana Stančić<sup>3</sup>, Aleksandra Janković<sup>3</sup>, Milica Vučetić<sup>3</sup>,  
Biljana Buzadžić<sup>3</sup>, Bato Korać<sup>3</sup> i Aleksandra Korać<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Novi Sad, Srbija;*

<sup>3</sup>*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd, Srbija.*

Kod sisara, adipozni organ sačinjen je od belog i mrkog masnog tkiva raspoređenih u više anatomske odvojenih depoa. Belo masno tkivo je primarno mesto za skladištenje energije u vidu deponovanih triglicerida, dok je mrko masno tkivo primarno mesto za potrošnju energije u obliku toplote. Termogena uloga mrkog masnog tkiva je posebno važna kod novorođenih sisara, koji nisu u stanju da efikasno proizvode toplotu drhtanjem. Kod sisara male mase, kao što su glodari, mrko masno tkivo prisutno je od rođenja kroz ceo životni vek. Iako se do skoro smatralo da kod ljudi ovo tkivo postoji samo kod novorođenčadi i da kod odraslih ljudi involuira, pokazano da i adulti poseduju diskretne depoe, aktivna ostrvca mrke masti. U humanim fetusima i kod novorođenčadi, mrka mast počinje razvoj u 20. nedelji trudnoće i nalazi se u pazušnom, cervikalnom, perirenalnom i periadrenalnom regionu. Nekoliko studija je istraživalo prisustvo dekuplujućeg proteina 1 (UCP1) u adipocitima sisara male mase, ali nema podataka o njegovoj lokalizaciji u adipocitima fetusa. Stoga, cilj ovog rada je bio da se ispita prisustvo i lokalizacija UCP1 u adipocitima humanog fetalnog mrkog masnog tkiva (5 humanih fetusa gestacijske starosti 18-22 nedelje koji su rutinski pripremljeni za svetlosnu i elektronsku mikroskopiju).

Imunohisto- i imunocitohemija je sprovedena na parafinskim i polutankim preseccima avidin-biotin-peroksidazim postupkom.

Svetlosna mikroskopija je pokazala da je većina adipocita u humanom mrkom masnom tkivu multilokularna. Jaka imunopozitivna reakcija za UCP1 je pronađena u multilokularnim, ali i u unilokularnim adipocitima. UCP1 je uglavnom lokalizovan u citoplazmi adipocita, ali i u ponekim nukleusima. Imunocitohemijska detekcija pokazala je prisustvo UCP1 u mitohondrijama multilokularnih zrelih adipocita ali i prekursorskih adipocitnih formi.

Naši rezultati sugerišu da se populacija mrkih adipocita sa termogeno osposobljenim mitohondrijama vrlo rano izdvaja od belih adipocita tokom fetalnog razvoja.

**P 25**

**AKTIVNA ULOGA MITOHONDRIJALNE POPULACIJE U FRAGMENTACIJI  
BLASTOMERA RANIH EMBRIONA**

Lela Šurlan<sup>1</sup>, Igor Golić<sup>2</sup>, Vesna Otašević<sup>3</sup>, Ksenija Veličković<sup>2</sup>, Vesna Stanković<sup>1</sup>,  
Ivan Tulić<sup>1</sup>, Milica Markelić<sup>2</sup>, Ana Stančić<sup>3</sup>, Aleksandra Janković<sup>3</sup>, Milica Vučetić<sup>3</sup>,  
Biljana Buzadžić<sup>3</sup>, Bato Korać<sup>3</sup> i Aleksandra Korać<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika za ginekologiju u akušerstvo Kliničkog centra Srbije, Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Beograd, Srbija.

Fragmentacija, kao jedan od najuočljivijih defekata ranih *in vitro* embriona, prihvaćen je i jasan indikator lošeg kvaliteta embriona. Morfološki idealni embrioni se retko dobijaju, dok je fragmentacija dinamična pojava koja neretko rezultuje resorpcijom fragmenta. Takvi embrioni nastavljaju razviće, sve do rođenja zdrave bebe. Smatra se da embrion aktivira sve raspoložive homeostatske mehanizme i da je distribucija i status maternalno nasleđenog mitohondrijalnog “pula” jedan od temelja tog procesa. Posledice nejednake raspodele i posebno nejednakog kvaliteta “paketa” mitohondrija dodeljenog svakoj od blastomera mogu biti od ključnog značaja za redoks ravnotežu blastomera ponaosob i sudbinu embriona u celini. Postojanje gradijenta u kvalitetu ili distribuciji mitohondrija može biti poticati iz perioda funkcionalnog sazrevanja oocite unutar jajnika ili biti posledica suboptimalnih uslova *in vitro* kultivacije. Kritična količina subnormalnih mitohondrija unutar svake blastomere može pokrenuti kaskadu molekularnih događaja koju vode u apoptozu. Imperativ neometane i pravilne blastulacije uz istovremeno očuvanje bioenergetskog statusa blastomera zahteva korektnu i selektivnu eliminaciju defektnih mitohondrija.

U ovoj studiji praćena je mitohondrijalna populacija fragmentiranih preimplantacionih humanih embriona. Raspored mitohondrija praćen je konfokalnom mikroskopijom mitohondrija bojenih MitoTracker-om. Njihov izgled i prisustvo unutar embriona ispitani su elektronskim mikroskopom. MitoTracker bojenje pokazalo je nejednaku raspodelu mitohondrija duž embriona u celini kao i unutar blastomera i citoplazmatskih fragmenata. Polu-tanki preseki otkrivaju mitohondrije izmenjenog izgleda grupisane oko krupnih vakuola smeštenih unutar fragmenata te odsustvo drugih organela i jedarnog materijala u fragmentima. Na utrastrukturalnom nivou uočavaju se mitohondrijalni “klasteri” (*engl.* mitoptotic body) u uskoj vezi sa membranom vakuola.

Rezultati sugerišu da je mitohondrijalna populacija fragmentiranih embriona afektovana i u pogledu prostornog rasporeda i strukture te da su pokrenuti “reparatorski” mehanizmi njihove aktivne eliminacije. Da li su u pitanju autofagni procesi, fizička eliminacija oštećenih mitohondrija putem ekstruzije, kombinacija poznatih i još neotkrivenih mehanizama predstavljaće izazov budućih studija.

*Rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije, #173054.*

P 26

## UTICAJ HRONIČNOG FIZIČKOG STRESA NA SINTEZU KATEHOLAMINA U SRŽI NADBUBREŽNE ŽLEZDE KOD ODRASLIH PACOVA

Ljubica Gavrilović, Vesna Stojiljković, Snežana Pejić, Jelena Kasapović,  
Ana Todorović, Snežana B Pajović i Slađana Dronjak

*Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Laboratorija za molekularnu biologiju i endokrinologiju, Beograd, Srbija.*

Izučavanje mehanizama različitih stresora kao i individualnih odgovora na stresore je važno u biologiji, fiziologiji i primenjenoj molekularnoj genetici da bi se razumele adaptacije i naročito, maladaptacije kateholaminskih sistema na stres. Kateholaminergički sistem je jedan od prvih i glavnih sistema koji se aktivira tokom stresa. Brojne bolesti i patološka stanja povezana su sa hroničnom izloženošću organizama stresu. Poznato je da kateholamini, dopamin (DA), noradrenalin (NA) i adrenalin (A), autooksidacijom proizvode reaktivne vrste kiseonika (ROS), superoksid anjon radikal ( $O_2^-$ ), te zbog toga u visokim dozama mogu izazvati apoptozu ćelije. Međutim, kateholamini u fiziološkim dozama pored glavne uloge neurotransmitera mogu imati i neurozaštitnu ulogu kao potencijalni antioksidansi. Iz tih razloga se simpato-adrenomedularni odgovor na stres i oksidativni stres smatraju kao dva istovremena i povezana odgovora u organizmu. Poznato je da fizička aktivnost dovodi do povećanog stvaranja ROS, međutim, da li kateholamini mogu imati ulogu u tome nije dovoljno objašnjeno. Iz tih razloga ispitivali smo da li hronično prinudno vežbanje (HPV) utiče na koncentraciju kateholamina u plazmi i ekspresiju gena za feniletanolamin N-metiltransferazu (PNMT) u srži nadbubrežne žlezde kod odraslih pacova. PNMT je jedan od ključnih enzima koji učestvuje u biosintezi kateholamina.

U eksperimentu smo koristili model prinudnog vežbanja kod pacova (trčanje po pokretnoj traci u trajanju od 12 nedelja) koji po svom intenzitetu i trajanju simulira intenzivnu fizičku aktivnost kod ljudi. Korišćenjem real-time PCR sa TaqMan probama i Western blot analize, utvrdili smo da HPV smanjuje nivo iRNK za PNMT, ali podiže nivo PNMT proteina u srži nadbubrežne žlezde. Povećana sinteza PNMT proteina ukazuje na *de novo* sintezu kateholamina u ispitivanom tkivu i povećano oslobađanje NA i A u cirkulaciju.

Povećana sinteza kateholamina u srži nadbubrežne žlezde pacova, kao i povećana koncentracija kateholamina u plazmi, predstavljaju potencijalne maladaptacije izazvane hroničnim fizičkim stresom. Visoki nivo kateholamina u organizmu predstavlja alostatičko opterećenje koje može dovesti do brojnih oboljenja i patoloških stanja vezanih za hronični stres.

**P 27**

***In vivo* TRETMAN TESTOSTERON-ENANTATOM STIMULIŠE EKSPRESIJU ANDROGENOG RECEPTORA (AR) I 3-BETA-HIDROKSISTEROID DEHIDROGENAZU/DELTA-5-DELTA-4 IZOMERAZU (3 $\beta$ HSD) I NARUŠAVA STEROIDOGENU MAŠINERIJU U LEYDIG-OVIM ČELIJAMA ADULTNIH PACOVA**

Maja M Bjelić, Nataša J Stojkov, Aleksandar I Mihajlović, Srđan J Sokanović, Aleksandar Z Baburski, Marija M Janjić, Tatjana S Kostić i Silvana A Andrić

*Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Srbija.*

Imajući u vidu dejstvo testosterona na reproduktivnu i druge fiziološke funkcije, od izuzetnog je značaja razumeti precizne molekularne mehanizme uključene u parakrinu regulaciju biosinteze androgena u Leydig-ovim ćelijama. Cilj ovog rada je bio da utvrdi *in vivo* i *in vitro* efekte testosterona na steroidogenu mašineriju u Leydig-ovim ćelijama.

Dizajnirana su dva tipa eksperimenta: (1) *In vivo* eksperiment u kome su adultni mužjaci pacova androgenizovani intramuskularnim tretmanom sa testosteron-depoom tokom jednog dana, dve nedelje i dva meseca; (2) *In vitro* eksperiment u kome su Leydig-ove ćelije izolovane iz testisa netretiranih pacova tretirane testosteronom.

Rezultati su pokazali da prolongirani *in vivo* tretman testosteronom smanjuje ekspresiju gena za: 'scavenger' receptor B tip 1 (*Scarb1*), protein translokator (*Tspo*), steroidogeni akutni regulatorni protein (*Star*), citohrom P450 koji cepa bočni lanac holesterola (*Cyp11a1*) i 17 $\alpha$ -hidroksilazu/17, 20 liazu (*Cyp17a1*) u Leydig-ovim ćelijama. Nasuprot tome, isti tretman je smanjio ekspresiju gena za 3- $\beta$ -hidroksisteroid dehidrogenazu/ $\Delta^5$ - $\Delta^4$  izomerazu (*Hsd3b*), androgeni receptor (*Ar*) i cAMP-zavisne fosfodiesteraze (*Pde4a/b*). Dvonedeljna androgenizacija je inhibirala transkripciju aromataze (*Cyp19a1*) u Leydig-ovim ćelijama, dok je dvomesečni tretman testosteronom izazvao suprotan efekat. Direktan *in vitro* tretman Leydig-ovih ćelija normalnih/kontrolnih pacova testosteronom takođe je ukazao na smanjenu ekspresiju *Cyp11a1*, *Cyp17a1* i *Cyp19a1* gena, dok je ekspresija *Hsd3b* bila stimulisana. Fiziološki značaj rezultata analize ekspresije potvrđen je smanjenim steroidogenim kapacitetom i aktivnosti Leydig-ovih ćelija, dok je konverzija pregnenolona u progesteron bila stimulisana.

Na osnovu svega navedenog može se sugerisati da stimulacija ekspresije androgenog receptora i 3 $\beta$ HSD u testosteronom narušenoj steroidogenezi Leydig-ovih ćelija predstavlja potencijalni mehanizam odgovoran za održavanje i sprečavanje potpunog gubitka steroidogene funkcije.

*Istraživanja su finansirana sa projekata MNI73057 i APV2397.*

P28

**ULOGA OKSIDATIVNOG STRESA U NEUROTOKSIČNOM DELOVANJU  
1-METIL-4-FENIL-2,3-DIHIPIRIDINA NA SH-SY5Y ĆELIJE  
HUMANOG NEUROBLASTOMA *in vitro***

Maja Jovanović<sup>1</sup>, Marija Dulović<sup>1</sup>, Aleksandra Isaković,<sup>1</sup> Vladimir Kostić<sup>2</sup>,  
Vladimir Trajković<sup>3</sup> i Ivanka Marković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Klinika za neurologiju, Klinički Centar Srbije, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Dr Subotića 6, 11000 Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Institut za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija.

Primena 1-metil-4-fenil-2,3-dihidropiridina (MPP<sup>+</sup>) *in vitro* se koristi kao jedan od modela za izučavanje mehanizma neurodegeneracije kod idiopatske Parkinsonove bolesti. Cilj ovog rada bio je ispitivanje uloge oksidativnog stresa u mehanizmu kojim MPP<sup>+</sup> dovodi do oštećenja ćelija humanog neuroblastoma SH-SY5Y.

Uticaj MPP<sup>+</sup> na vijabilitet ćelija humanog neuroblastoma ispitivan je merenjem aktivnosti endogene kisele fosfataze i MTT testom. Analiza ćelijskog ciklusa, zastupljenosti autofagije, prisustva kiseoničnih slobodnih radikala i potencijala unutrašnje membrane mitohondrija izvršena je analizom ćelija protočnom citometrijom nakon primene odgovarajućih fluorohroma (propidijum jodid, akridin oranž, DHE i JC-1), a detekcija proteina značajnih za regulaciju ćelijske smrti i proces autofagije primenom imunoblota.

MPP<sup>+</sup> je pokazao toksično dejstvo na SH-SY5Y ćelije nakon 24- i 48-časovnog tretmana (IC<sub>50</sub> = 1.93 ± 0.19 mM nakon 48h). Analiza protočnom citometrijom je pokazala da primena MPP<sup>+</sup> (4mM) dovodi do povećanja produkcije superoksidnog anjona (koja dostiže maksimum nakon 8h) i sledstvene depolarizacije mitohondrija (nakon 16h), uz povećanje procenta ćelija sa hipodiploidnim sadržajem DNK (25,57% nakon 24h) u odnosu na netretirane ćelije. Takođe, primena MPP<sup>+</sup> je dovela do značajnog porasta u koncentraciji acidofilnih vezikula (lizozoma/autofagolizozoma) u tretiranim ćelijama, ukazujući na prisutvo autofagije. Analiza ekspresije proteina značajnih za regulaciju ćelijske smrti i autofagije pokazala je da dolazi do vremenski zavisne aktivacije AMPK, raptor i Akt, kao i smanjenja aktivnosti ERK.

Tretman MPP<sup>+</sup>-om ćelija neuroblastoma dovodi do povećanja produkcije slobodnih kiseoničnih radikala i sledstvene depolarizacije mitohondrija, što je praćeno aktivacijom AMPK-zavisne autofagije.

**P 29**

**VISOKE DOZE TESTOSTERONA STIMULIŠU NO SIGNALNI PUT  
U LEYDIG-OVIM ĆELIJAMA PACOVA I INDUKUJU APOPTOZU**

Marija Janjić, Silvana Andrić, Nataša Stojkov, Maja Bjelić, Aleksandar Mihajlović,  
Srđan Sokanović, Aleksandar Baburski i Tatjana Kostić

*Univerzitet u Novom Sadu, Laboratorija za reproduktivnu endokrinologiju i signaling,  
Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Srbija.*

Testosteron, delujući centralno i lokalno, jedan je od glavnih regulatornih molekula odgovornih za održavanje funkcije testisa. Da bi pokazali regulatornu funkciju visokog nivoa testosterona na azot oksid (NO) - cGMP signalni put u Leydig-ovim ćelijama, koristili smo različite eksperimentalne pristupe: (1) *in vivo* model nametnutog kontinualno-visokog nivoa testosterona, intramuskularnim iniciranjem testosteron-enantata; (2) eksperimentalni model hipogonadotropnog hipogonadizma i zamenska terapija testosteron-enantom; (3) *in vivo* tretman blokade androgenog receptora i (4) *in vitro* model primarne kulture Leydig-ovih ćelija.

Dobijeni rezultati su pokazali da tretman sa testosteronom stimuliše ekspresiju gena i proteina inducibilne azot oksid sintaze (NOS2) u Leydig-ovim ćelijama. Ova stimulacija ekspresije je bila praćena povećanjem sekrecije NO. Istovremeno, ekspresija cGMP specifične PDE5 je „up“-regulisana, dok je ekspresija PRKG1 „down“-regulisana. Blokada androgenog receptora sprečila je indukciju *Nos2* i *Pde5* u Leydig-ovim ćelijama testosteronom tretiranih pacova. Sa druge strane, Leydig-ove ćelije hipogonadalnih pacova imaju značajno manji nivo NOS2, ali je zamenska terapija testosteronom povećala njenu ekspresiju iznad kontrolnih vrednosti. Nivo proteina PDE5 kod hipogonadalnih životinja ostao je nepromenjen, dok je tretman testosteronom značajno povećao njegovu ekspresiju. Nasuprot tome, hipogonadizam i zamenska terapija testosteronom, smanjile su nivo PRKG1 proteina u Leydig-ovim ćelijama. *In vitro* tretman Leydig-ovih ćelija testosteronom izazvao je graduisan porast ekspresije *Nos2* i dozno-zavisno stimulisao produkciju NO i cGMP-a.

Iz svega navedenog može se zaključiti da testosteron, sa jedne strane „up“-reguliše NO signalni put (indukcijom NOS2 i porastom produkcije NO u Leydig-ovim ćelijama), a sa druge strane „down“-reguliše cGMP signalni put (stimulacijom ekspresije PDE5 i inhibicijom ekspresije PRKG1). Stimulacija „proapoptotičkog“ NO signalinga i inhibicija „antiapoptotičkog“ cGMP signalinga, indukuje apoptozu Leydig-ovih ćelija. Dobijeni rezultati sugerišu da testosteronom-indukovana apoptoza Leydig-ovih ćelija doprinosi adaptivnoj reakciji uspostavljanja nove „androgene homeostaze“ preko regulacije brojnosti populacije Leydig-ovih ćelija.

*Rad je finansiran od strane Pokrajinskog projekta APV (2530) i projekta Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije (OII73057).*



**P 30**

## **NO MODIFIKOVANI SAKVINAVIR INDUKUJE SENZITIZACIJU ĆELIJA HORMON ZAVISNOG KANCERA PROSTATE NA TRAIL**

Marija Mojić<sup>1</sup>, Danijela Maksimović-Ivanić<sup>1</sup>, Stanislava Stošić-Grujičić<sup>1</sup>,  
Dorđe Miljković<sup>1</sup>, Svetlana Dinic<sup>2</sup>, Nevena Grdović<sup>2</sup>, Yousef Al-Abed<sup>3</sup>,  
Ferdinando Nikoleti<sup>4</sup> i Sanja Mijatović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Odeljenje za imunologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“ Odeljenje za molekularnu biologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Feinstein institut za medicinska istraživanja, Njujork, SAD;

<sup>4</sup>Odeljenje za biomedicinske nauke, Medicinski fakultet, Univerzitet u Kataniji, Katanija, Italija.

Prethodno smo pokazali da forma inhibitora HIV proteaze sakvinavira modifikovana kovalentnim vezivanjem azot monoksida (Saq-NO) efikasno suprimira rast brojnih tumorskih linija u *in vitro* uslovima, singenim i ksenograft animalnim modelima malignih bolesti. Primenjen u dozi koja je za originalni lek letalna, Saq-NO je potpuno netoksičan. Antitumorsko delovanje leka se može pripisati kako direktnim efektima na malignu ćeliju, tako i njegovoj sposobnosti da revertuje njenu osetljivost na imunski odgovor posredovan ligandom iz familije TNF koji pokreće apoptozu (TRAIL).

U ovoj studiji je ispitivan uticaj Saq-NO na ćelijsku liniju kancera prostate LNCaP. Saq-NO smanjuje vijabilnost tumorskih ćelija *in vitro*. Primena u dozi od 10 mg/kg zaustavlja rast tumora indukovanih subkutanim ubrizgavanjem ćelija u imunodeficijentne miševе. Inhibicija rasta je posledica zaustavljanja ćelija u Go/G1 fazi, dok je uspostavljena blokada proliferacije permanentna i nezavisna od prisustva leka. Pretretman LNCaP ćelija Saq-NO u trajanju od samo 6 h čini ćelije osetljivim na TRAIL, ali ne i TNF. Izlaganje Saq-NO dovodi do prolaznog povećanja Akt i ERK1/2 (ekstraćelijskim signalom regulisana kinaza), ali se neutralisanjem njihove aktivnosti efikasnost leka ne umanjuje. Sa druge strane, nishodni target oba puta, ribozomalni S6 protein je kontinuirano inhibiran. U osnovi uspostavljene osetljivosti na TRAIL i posledičnog povećanog prisustva inhibitora apoptoze XIAP leži smanjena aktivacija S6 proteina.

U celini, primenjena hemijska intervencija je značajno unapredila svojstva originalnog leka kako kroz osnaživanje direktnog antitumorskog potencijala tako i sposobnošću da malignu ćeliju učini vidljivom za imunski sistem.

*Ovaj rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije (projekat br. 173013).*

**P31**

**EFEKTI KALORIJSKE RESTRIKCIJE NA PARAMETRE OKSIDATIVNOG STRESA U JETRI PACOVA**

Marija Stanković<sup>1</sup>, Dušan Mladenović<sup>1</sup>, Milica Ninković<sup>2</sup>, Danijela Vučević<sup>1</sup>,  
Tina Tomašević<sup>1</sup> i Tatjana Radosavljević<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za patološku fiziologiju, Dr Subotića 9, 11000 Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Vojnomedicinska akademija, Crnotravska 17, 11000 Beograd, Srbija.*

Umerena kalorijska restrikcija produžava životni vek i odlaže ili sprečava pojavu različitih bolesti koje su udružene sa procesom starenja. Ulogu u ovom dejstvu kalorijske restrikcije mogu imati promene u parametrima oksidativnog stresa i hormeza. Cilj rada je bio da se ispita efekat različitih stepena hronične kalorijske restrikcije i akutnog gladovanja na stresni odgovor organizma i na parametre oksidativnog stresa u jetri i plazmi pacova.

Pacovi (n=42) su podeljeni u sledeće grupe: 1. Kontrolna grupa (n=7) 2. Grupe sa ograničenim unosom hrane na 80-90% (n=7), 60-70% (n=7), 40-50% (n=7) i 20-30% (n=7) dnevnih energetske potreba (grupe KR80-90, KR60-70, KR40-50 i KR20-30, redom) tokom 5 nedelja i 3. Grupa izložena akutnom gladovanju tokom nedelju dana (n=7). Uzeti su uzorci tkiva jetre i krv iz desne komore srca, a potom su određene koncentracije kortikosterona, NOx, MDA i GSH, kao i AST, ALT i SOD aktivnosti.

Koncentracija kortikosterona u plazmi progresivno raste sa povećanjem stepena kalorijske restrikcije. Ograničenje unosa hrane na 40-50% energetske potreba ili manje uzrokuje značajan porast AST i ALT aktivnosti u plazmi, kao i porast koncentracije MDA i NOx u jetri, a istovremeno dolazi do smanjenja aktivnosti ukupne SOD i njenih izoenzima u poređenju sa kontrolnom grupom. Unos 60-70% dnevnih energetske potreba uzrokuje značajan porast aktivnosti Mn-SOD i koncentracije GSH i NOx u jetri, u poređenju sa kontrolnom grupom. U grupi KR20-30 i grupi izloženoj akutnom gladovanju, koncentracija GSH u jetri je značajno niža u odnosu na kontrolnu grupu.

Izražena kalorijska restrikcija i akutno gladovanje smanjuju antioksidativni kapacitet hepatocita i uzrokuju povećanje oksidativnog oštećenja jetre. Umerena kalorijska restrikcija povećava antioksidativni kapacitet hepatocita povećavajući MnSOD aktivnost i koncentraciju GSH, što može biti mehanizam anti-aging i hormeznog dejstva kalorijske restrikcije.

P 32

**ISPITIVANJE ANTIPROLIFERATIVNE I APOPTOTSKE AKTIVNOSTI  
METANOLNIH EKSTRAKATA BILJKE *Ligustrum vulgare* L. NA HCT-116  
ĆELIJSKOJ LINIJI U ZAVISNOSTI OD VREMENA IZLAGANJA  
I U KOTRETMANU SA KOMPLEKSOM PALADIJUMA**

Milena Ćurčić<sup>1</sup>, Milan Stanković<sup>1</sup>, Emina Mrkalić<sup>2</sup>, Zoran Matović<sup>2</sup>, Dragana Đačić<sup>1</sup>,  
Danijela Cvetković<sup>1</sup>, Marko Živanović<sup>1</sup> i Snežana Marković<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za hemiju, Radoja Domanovića 12, 34 000 Kragujevac, Srbija.

*Ligustrum vulgare* L. je žbunasta biljka iz porodice Oleaceae, široko rasprostranjena i korišćena u narodnoj medicini i farmaciji. U cilju poboljšanja efikasnosti hemoterapeutika sintetisan je kompleks paladijuma sa ligandom H<sub>2</sub>apox(*N,N'*-bis(3-aminopropyl)oxamide). Cilj rada je ispitivanje efekta metanolnih ekstrakata dobijenih iz listova i plodova biljke *L. vulgare* na proliferaciju HCT-116 ćelija u zavisnosti od vremena izlaganja ćelija ekstraktu, kao i sinergističkog efekta biljnih ekstrakata i kompleksa paladijuma.

Antiproliferativni efekat je određivan MTT testom citotoksičnosti, a tip ćelijske smrti akridin oranž/etidijum bromid metodom na fluorescentnom mikroskopu nakon 3, 6, 12, 24 i 72 sata. Rezultati pokazuju da se sa produžetkom vremena izlaganja povećava antiproliferativna i apoptotska aktivnost, sa smanjenjem IC<sub>50</sub> vrednosti, osim nakon 72 sata gde se uočava slabija inhibicija ćelijskog rasta i manji procenat ćelija u apoptozi u odnosu na 24 sata (IC<sub>50</sub> vrednosti su: > 500, 159.46, 147.82, 28.23, 64.64 µg/ml za metanolni ekstrakt dobijen iz listova i > 500, 325.91, 240.79, 47.36, 108.04 µg/ml za metanolni ekstrakt dobijen iz plodova posle 3, 6, 12, 24 i 72 sata). Pd izaziva slabu citotoksičnost, ali u kotretmanu sa biljnim ekstraktima pokazuje dobre sinergističke efekte. Rezultati pokazuju da biljka u kotretmanu sa Pd ima veoma jaku antiproliferativnu aktivnost, sa znatno nižim IC<sub>50</sub> vrednostima, i većim procentom ćelija u apoptozi nego kada su ćelije tretirane samo biljnim ekstraktom.

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da vrsta *L. vulgare* predstavlja značajan izvor prirodnih bioaktivnih supstanci koje ispoljavaju najbolju antiproliferativnu aktivnost u *in vitro* uslovima nakon 24 sata izloženosti HCT-116 ćelija ekstraktu i poseduje veoma dobar sinergistički efekat sa kompleksom paladijuma.

**P 33**

**PROMIGRATORNI I ANTIOKSIDACIONI EFEKTI INTERLEUKINA-6  
U TROFOBLASTIMA MIŠA**

Miloš Matić<sup>1</sup>, Nataša Đorđević<sup>1</sup>, Goran Babić<sup>2</sup>, Branka Ognjanović<sup>1</sup>, Andraš Štajn<sup>1</sup>  
i Zorica S Saičić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Institut za Biologiju i Ekologiju, Prirodno-matematički fakultet u Kragujevcu, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Medicinski Fakultet, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Trofoblasti su ćelije placente i karakterišu se visokom sposobnošću proliferacije, migracije i invazije. Migracija trofoblasta je od ključnog značaja za proces implantacije i normalan razvoj fetusa. Tokom implantacije trofoblasti invaduju u decidu i remodeliraju spiralne arterije uterusa obezbeđujući na taj način adekvatan protok krvi kroz fetoplacentalnu jedinicu. Poremećaji u migraciji trofoblasta dovode do neadekvatne implantacije, usled čega dolazi do prevremenih porođaja, intrauterinog zastoja u rastu i razvoju preeklampsije. Azot monoksid (NO) ima značajnu ulogu u regulaciji placencije i vaskularne reaktivnosti utero-placentalne i fetoplacentalne cirkulacije. Faktori okolnog tkiva mogu da utiču na produkciju NO i modifikacijom parametara oksidacionog stresa smanje ili povećaju njegovu biodostupnost. Jedan od faktora koga decidua luči u ranim mesecima graviditeta je interleukin-6 (IL-6). U našoj studiji ispitivali smo da li IL-6 posredstvom redukcije reaktivnih vrsta kiseonika i azota doprinosi migraciji trofoblasta.

Ćelijske linije trofoblasta miša gajene su u kulturi 24 h u prisustvu različitih koncentracija IL-6 (0.5; 1 i 2 pg/ml). Za procenu migratornih sposobnosti trofoblasta korišćen je esej sa Boyden komorama. U ćelijama trofoblasta određivana je koncentracija superoksid anjon radikala ( $O_2^{\cdot-}$ ), vodonik peroksida ( $H_2O_2$ ), nitrita ( $NO_2^-$ ) i peroksinitrita ( $ONOO^-$ ).

Rezultati naše studije pokazuju da je migracija trofoblasta stimulisana pri svim primenjenim koncentracijama IL-6. U trofoblastima koncentracije  $NO_2^-$  i  $H_2O_2$  se ne menjaju u toku tretmana, dok visoke koncentracije IL-6 (1 i 2 pg/ml) statistički značajno redukuju koncentraciju  $O_2^{\cdot-}$  i  $ONOO^-$ .

Na osnovu rezultata naših istraživanja pokazano je da IL-6 stimuliše migraciju trofoblasta i doprinosi povećanju biodostupnosti NO posredstvom redukcije  $O_2^{\cdot-}$  i  $ONOO^-$ .

**P 34**

**ISPITIVANJE ANTITUMORSKOG POTENCIJALA NOVOSINTETISANIH AMINSKIH LIGANADA I ODGOVARAJUĆIH Pt(II) i Pt(IV) KOMPLEKSA**

Mirna Bulatović<sup>1</sup>, Marija Mojić<sup>1</sup>, Đorđe Miljković<sup>1</sup>, Stanislava Stošić-Grujičić<sup>1</sup>, Goran Kaluđerović<sup>2</sup>, Reinhard Paschke<sup>2</sup>, Sanja Mijatović<sup>1</sup> i Danijela Maksimović-Ivanić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Odeljenje za imunologiju, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Biozentrum, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Hale, Nemačka.*

Cisplatina je lek koji se već godinama primenjuje u hemoterapiji različitih tipova kancera. Međutim, širu primenu cisplatine limitira velika nefro- i hepatotoksičnost leka koja je povezana sa oksidativnim stresom, disbalansom redoks stanja i narušavanjem energetskog metabolizma u mitohondrijama. Radi eliminacije toksičnih osobina i prevazilaženja rezistencije na lek do danas je sintetisano više od 3000 analoga cisplatine.

U ovom radu su ispitivana antitumorska svojstva pet novosintetisanihaminskih liganada i odgovarajućih Pt(II) i Pt(IV) kompleksa na različitim ćelijskim linijama.

Dok su se novosintetisani derivati cisplatine pokazali izuzetno citotoksičnim za ispitivane tumorske linije, efekat ovih jedinjenja na primarnim fibroblastima i keratinocitima je bio značajno blaži. Osnovni mehanizam delovanja ispitivanih jedinjenja je apoptoza zavisna od aktivnosti kaspaza, što je pokazano na klonu humanog kancera kolona-HCT116, koji je rezistentan na cisplatinu. I pored značajnog prisustva reaktivnih vrsta kiseonika i azota (ROS i RNS) u odgovoru na tretmane, njihova eliminacija N-acetil cisteinom nije značajno neutralisala efikasnost primenjenih agenasa ukazujući na to da ovi molekuli nisu ključni medijatori njihove toksičnosti.

Iz svega navedenog može se zaključiti da su modifikovani derivati unapređenih svojstava u odnosu na originalni lek.

*Ovaj rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije (projekat br. 173013).*

P 35

## REGULACIJA BIODOSTUPNOSTI AZOT MONOKSIDA U PLAZMI ZDRAVIH TRUDNICA TRETIRANIH ESTRADILOM

Nataša Đorđević<sup>1</sup>, Goran Babić<sup>2</sup>, Miloš Matić<sup>1</sup>, Branka Ognjanović<sup>1</sup>, Andraš Štajn<sup>1</sup>  
i Zorica S Saičić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Institut za Biologiju i Ekologiju, Prirodno-matematički fakultet u Kragujevcu, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Kragujevcu, Medicinski Fakultet, 34000 Kragujevac, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Azot monoksid (NO) ima značajnu ulogu u reprodukciji, održavanju trudnoće i sazrevanju grlića materice. Smanjena biodostupnost NO može da onemogući sazrevanje grlića materice što rezultira prenesenom trudnoćom, usled čega se povećava rizik prenatalnog morbiditeta i mortaliteta. Zdrava trudnoća se zbog povećane aktivnosti placentalnih mitohondrija i majčinog metabolizma karakteriše produkcijom velikih količina reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) i reaktivnih vrsta azota (RNS) koja se povećava sa napredovanjem gestacijske starosti i dovodi do pojave oksidacionog stresa. U uslovima intezivnog oksidacionog stresa, usled smanjene bioaktivnosti NO, onemogućeno je sazrevanje grlića materice i normalan tok porođaja. Trofoblasti, fetalna adrenalna žlezda i majčina jetra sintetišu velike količine estradiola koji je neophodan za održavanje trudnoće. U našoj studiji ispitivali smo efekte kratkotrajne terapije estradiolom na koncentraciju ROS i RNS u plazmi 22 zdrave trudnice u 40. nedelji gestacije kod kojih su postojale indikacije za indukciju porođaja.

Injekcija 17-β estradiola aplicirana je i.m., trudnicama tokom tri dana pre indukcije porođaja. Pre terapije i u toku terapije estradiolom, određivane su koncentracije estradiola u serumu, a koncentracije superoksid anjon radikala ( $O_2^-$ ), vodonik peroksida ( $H_2O_2$ ), nitrita ( $NO_2^-$ ) i peroksinitrita ( $ONOO^-$ ) određivane su u plazmi.

Dobijeni rezultati pokazuju da se u toku terapije koncentracija estradiola statistički značajno povećava. Terapija estradiolom statistički značajno smanjuje koncentracije  $O_2^-$  i  $ONOO^-$  u plazmi zdravih trudnica, dok na koncentraciju  $H_2O_2$  i  $NO_2^-$  ne utiče.

Rezultati ove studije pokazuju da estradiol posredstvom redukcije oksidacionog stresa u plazmi zdravih trudnica učestvuje u regulaciji NO sadržaja koji doprinosi sazrevanju grlića materice što je od velikog značaja za normalan tok porođaja.

**P 36**

**ULOGA NO-cGMP SIGNALNOG PUTA I STRUKTURNE KOMPLEKSNOŠTI TESTISA U ADAPTIVNOM ODGOVORU LEYDIG-OVIH ĆELIJA NA PONAVALJANI IMOBILIZACIONI STRES**

Nataša J Stojković, Marija M Janjić, Aleksandar I Mihajlović, Srđan J Sokanović,  
Aleksandar Z Baburski, Maja M Bjelić, Tatjana S Kostić i Silvana A Andrić

*Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Odeljenje za biologiju i ekologiju, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Srbija.*

Uloga azot-oksida (NO) - ciklični guanozin monofosfat (cGMP) signalnog puta i strukturne kompleksnosti testisa ispitivana je kod adultnih mužjaka pacova, koji su izlagani akutnom i ponavljanom imobilizacionom stresu (IMO).

U preparatima celih testisa, povećana produkcija NO zapažena je, kako kod grupe životinja koja je bila izlagana akutnom, tako i kod grupa životinja koje su bile izlagane ponavljanom IMO. Nasuprot tome, u preparatima intersticijalnih ćelija produkcija NO bila je inhibirana nakon izlaganja životinja akutnom i ponavljanom IMO, dok je u preparatima purifikovanih Leydig-ovih ćelija inhibicija zapažena samo nakon izlaganja životinja 10 puta ponavljanom IMO. Navedeni rezultati ukazuju da biološki aktivne komponente oslobođene iz različitih testikularnih kompartmenata, poseduju i stimulatorne i inhibitorne efekte na produkciju NO.

Pored toga, 10 puta ponavljani IMO je smanjio ekspresiju i gena i proteina za cGMP-specifičnu fosfodiesterazu 5 (PDE5) u Leydig-ovim ćelijama. Nasuprot tome, u istim uzorcima, detektovan je porast u ekspresiji proteina cGMP-zavisne protein kinaze 1 (PRKG1), kao i totalne i fosforilisane forme steroidogenog akutnog regulatornog proteina (StAR). Istovremeno, registrovano je povećano formiranje imunoprecipitiranog kompleksa PRKG1/StAR u Leydig-ovim ćelijama pacova izlaganih ponavljanom IMO. Funkcionalnost PRKG1/StAR kompleksa je potvrđena inhibicijom PRKG1 čime je efikasno blokiran porast u ekspresiji totalne i fosforilisane forme StAR proteina.

Imajući u vidu da su rezultati ovog rada pokazali da 10 puta ponavljani IMO povećava ekspresiju PRKG1/StAR proteinskog kompleksa i smanjuje nivo PDE5 u Leydig-ovim ćelijama, moguće je sugerisati da NO-cGMP signalni put i sledstvena aktivacija StAR proteina regulišu adaptivni odgovor Leydig-ovih ćelija u uslovima ponavljanih IMO.

*Istraživanja su finansirana sa projekata APV2397 i MN173057.*

P 37

**GLUTATION ZAVISNI ENZIMI U JETRI NEKIH RIBA  
JADRANSKOG MORA; SEZONSKE I INTERSPECIJSKE RAZLIKE**

Sladjan Z Pavlović<sup>1</sup>, Slavica Borković-Mitić<sup>1</sup>, Tijana Radovanović<sup>1</sup>, Branka Perendija<sup>1</sup>,  
Svetlana Despotović<sup>1</sup>, Jelena Gavrić<sup>1</sup>, Slaviša Milošević<sup>2</sup> i Zorica S Saičić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup> Univerzitet u Prištini sa privremenim sedištem u Kosovskoj Mitrovici, Prirodno-matematički fakultet, Lole Ribara 29, 38220 Kosovska Mitrovica, Srbija.

Glutation zavisni enzimi imaju značajnu ulogu u održanju ćelijske homeostaze. Njihova aktivnost može biti indukovana ili inhibirana kao adaptivni odgovor na prirodne fluktuacije faktora sredine, kao i na izlaganje različitim zagađivačima. RIBE su pogodan objekat za proučavanje različitih uporedno fizioloških razlika i spoljašnjih uticaja, kao što su: sezonske varijacije, uticaj ishrane i uticaj zagađivača zato što su široko rasprostranjene, lako se izlovljavaju i brzo reaguju na promene spoljašnje sredine.

U našoj studiji određivali smo aktivnost glutacion zavisnih enzima: glutation-peroksidaze (GSH-Px), glutation-reduktaze (GR) i enzima faze II biotransformacije glutation-S-transferaze (GST) u jetri oslića (*Merluccius merluccius* L.), trlje (*Mullus barbatus* L.) i kokota (*Trigla lucerna* L.) izlovljavanih na lokalitetu Platomuni (Jadransko more) tokom zimskog i prolećnog perioda. Cilj istraživanja bio je utvrđivanje sezonskih razlika u aktivnosti ispitivanih parametara, kao i razlika između ispitivanih vrsta.

Dobijeni rezultati pokazuju statistički značajno smanjenje aktivnosti GST kod svih ispitivanih vrsta, kao i GSH-Px u jetri kokota u prolećnom periodu u odnosu na zimski. U isto vreme, aktivnost GSH-Px bila je značajno povećana u jetri trlje u prolećnom periodu. Promene aktivnosti GR nisu zabeležene ni kod jedne ispitivane vrste u obe sezone. Promene aktivnosti između ispitivanih vrsta su konstatovane i u zimskom i u prolećnom periodu, pri čemu su aktivnosti svih ispitivanih enzima bile statistički najveće u jetri kokota, zatim trlje, a najmanje u jetri oslića.

Sve dobijene uporedno fiziološke i sezonske razlike se moraju uzeti u obzir prilikom različitih biomonitoring studija, kao i prilikom procene stepena zagađenja životne sredine bazirane na molekularno fiziološkim parametrima.



P 38

**KONCENTRACIJA VITAMINA E I SH GRUPA KAO BIOMARKERA  
OKSIDACIONOG STRESA U DIGESTIVNOJ ŽLEZDI I ŠKRGAMA  
KOD ŠKOLJKE *Unio tumidus* U RECI SAVI**

Slavica Borković-Mitić<sup>1</sup>, Slađan Pavlović<sup>1</sup>, Tijana Radovanović<sup>1</sup>, Branka Perendija<sup>1</sup>,  
Svetlana Despotović<sup>1</sup>, Jelena Gavrić<sup>1</sup>, Momir Paunović<sup>2</sup>, Snežana B Pajović<sup>3</sup>  
i Zorica S Saičić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za hidroekologiju i zaštitu voda, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Mike Petrovića Alasa 12-14, 11001 Beograd, Srbija.

U našoj studiji ispitivali smo koncentraciju vitamina E i SH grupa u digestivnoj žlezdi i škrigama slatkovodne školjke *Unio tumidus* na četiri lokaliteta (Jamena, Sremska Mitrovica, Šabac i Ostružnica) na reci Savi.

Kod slatkovodne školjke *U. tumidus* koncentracija vitamina E bila je statistički značajno veća na lokalitetu Šabac i u digestivnoj žlezdi i škrigama u odnosu na druge ispitivane lokalitete. Koncentracija SH grupa kod slatkovodne školjke *U. tumidus* bila je statistički značajno veća u digestivnoj žlezdi u poređenju sa škrigama na sva četiri lokaliteta, a najveće vrednosti koncentracije SH grupa su zabeležene na lokalitetima Šabac i Ostružnica. Dobijeni rezultati u našoj studiji pokazuju veliku specifičnost u odnosu na tkivo i lokalitet, ukazujući na različite metaboličke aktivnosti i raznovrstan uticaj sredine. Naši podaci ukazuju da varijacije u koncentraciji vitamina E i SH grupa kod *U. tumidus*, takođe mogu biti korišćene za molekularno fiziološki biomonitoring životne sredine.

Naša studija predstavlja prvi obiman izveštaj o koncentraciju vitamina E i SH grupa kao relevantnih biohemijskih biomarkera oksidacionog stresa kod slatkovodne školjke *U. tumidus* na različitim ispitivanim lokalitetima na reci Savi i obezbeđuje osnovu za buduća proučavanja koja će uzeti u obzir naše parametre kao potencijalne biohemijske biomarkere za molekularno fiziološki biomonitoring osnovnih sredinskih uslova i nekih antropogenih uticaja.

P 39

**BIOHEMIJSKI BIOMARKERI OKSIDACIONOG STRESA  
KOD REČNOG PUŽA (*Viviparus acerosus*) IZ VELIKE MORAVE**

Svetlana Despotović<sup>1</sup>, Branka Perendija<sup>1</sup>, Jelena Gavrić<sup>1</sup>, Tijana Radovanović<sup>1</sup>,  
Slavica Borković-Mitić<sup>1</sup>, Slađan Pavlović<sup>1</sup>, Momir Paunović<sup>2</sup> i Zorica S Saičić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Odeljenje za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Odeljenje za hidroekologiju i zaštitu voda, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

U našoj studiji koristili smo jedinke rečnog puža *Viviparus acerosus* sakupljene na lokalitetu Varvarin na Velikoj Moravi i jedinke iste vrste i sa istog lokaliteta koje su mesec dana pre eksperimenta adaptirane na akvarijumske uslove i koje predstavljaju kontrole. Određivali smo aktivnost biohemijskih biomarkera oksidacionog stresa: superoksid-dismutaze (SOD), katalaze (CAT), glutation-peroksidaze (GSH-Px) i glutation-reduktaze (GR), enzima faze II biotransformacije glutation-S-transferaze (GST), kao i koncentraciju glutationa (GSH) kod puževa *V. acerosus*.

Dobijeni rezultati pokazuju da su aktivnosti CAT, GSH-Px, GR i GST, kao i koncentracija GSH bile statistički značajno veće kod puževa *V. acerosus* sakupljenih na Velikoj Moravi u poređenju sa kontrolama. Nisu zabeležene statistički značajne razlike u aktivnosti SOD između dve ispitivane grupe puževa.

Dobijeni rezultati ukazuju na povećani oksidacioni stres kod puževa *V. acerosus* iz Velike Morave u odnosu na kontrolne, akvarijumske jedinke. U prirodnim uslovima na akvatične organizme deluju složeni abiotički i biotički faktori i povećan je stepen antropogenog uticaja, čime se objašnjavaju dobijene statističke razlike biohemijskih biomarkera oksidacionog stresa u našoj studiji. Da bi se dobila bolja slika o stanju životne sredine, u molekularno fiziološki biomonitoring značajno je uključiti i kontrolne jedinke adaptirane na akvarijumske uslove.

**P 40**

**EFEKTI N-3 SUPLEMENTACIJE NA PARAMETRE OKSIDATIVNOG STRESA U JETRI STARIH PACOVA WISTAR SOJA**

Tamara Popović<sup>1</sup>, Sunčica Borozan<sup>2</sup>, Aleksandra Arsić<sup>1</sup>, Jasmina Debeljak-Martačić<sup>1</sup>, Vesna Vučić<sup>1</sup> i Marija Glibetić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu, Tadeuša Košćuška 1, 11000 Beograd, Srbija;*

<sup>2</sup>*Veterinarski Fakultet Univerziteta u Beogradu, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Srbija.*

Starenje kao univerzalni biološki proces uzrokuje biohemijske, metaboličke kao i promene na molekularnom nivou kod starih Wistar pacova. Suplementacija n-3 polinezasićenim masnim kiselinama ima značajan uticaj na funkciju i promene u parametrima oksidativnog stresa jetre.

Eksperimenti su izvedeni na Wistar starim pacovima, mužjacima (20 meseci, 350g). Životinje su podeljene u dve grupe. Kontrolna grupa (n=10) je primala neograničeno vodu i standardnu laboratorijsku hranu. Tretirana grupa (n=10) primala je n-3 polinezasićene masne kiseline (riblje ulje), 6 nedelja (45mg EPA, 30mg DHA dnevno). Svi parametri u obe grupe su mereni na kraju eksperimenta po žrtvovanju. Parametri oksidativnog stresa određivani su standardnim laboratorijskim kitovima, a merenja su vršena na UV/VIS spektrofotometru i ELISA metodom.

Šest nedelja tretmana ribljim uljem izazvalo je značajno smanjenje u koncentraciji produkata lipidne peroksidacije (MDA produkt, nmol/gHb;  $56.39 \pm 9.51$  u odnosu na  $40.31 \pm 3.11$ ), značajno smanjenje koncentracije nitrita ( $\mu\text{mol/L}$ ) ( $72.69 \pm 13.58$  vs.  $30.77 \pm 8.67$ ). Aktivnost katalaze značajno je statistički povećana ( $43.55 \pm 10.37$  vs.  $54.64 \pm 5.12$ ) dok se aktivnost superoksid dismutaze nije značajno menjala.

Suplementacija n-3 polinezasićenim masnim kiselinama u šestonedeljnog tretmanu u pomenutoj dozi kod starih pacova Wistar soja može zaštititi jetru od slobodno radikalskih oštećenja u procesu starenja kada je oksidativni/antioksidativni odbrambeni mehanizam oštećen.

**P 41**

**KONCENTRACIJA VITAMINA E I SH GRUPA  
U NEKIM TKIVIMA REČNE MRENE *Barbus Barbus* IZ REKE DUNAV**

Tijana Radovanović<sup>1</sup>, Branka Perendija<sup>1</sup>, Svetlana Despotović<sup>1</sup>, Jelena Gavrić<sup>1</sup>,  
Slavica Borković-Mitić<sup>1</sup>, Slađan Pavlović<sup>1</sup>, Predrag Cakić<sup>2</sup>, Snežana B Pajović<sup>3</sup>  
i Zorica S Saičić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za fiziologiju, Bulevar Despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja "Siniša Stanković", Odeljenje za hidroekologiju i zaštitu voda, Bulevar Despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“, Mike Petrovića Alasa 12-14, 11001 Beograd, Srbija.

U našoj studiji određivali smo sezonski zavisnu promenu u koncentraciji vitamina E i SH grupa u škragama, bubregu i crevu rečne mreke (*Barbus barbus*) iz Dunava, koja predstavlja bentosnu ribu široke geografske distribucije. Istraživanja su izvedena u prigradskom području Beograda, između Višnjice i Grocke, u prolećnoj i letnjoj sezoni. Koncentracije ispitivanih parametara merene su standardnim spektrofotometrijskim metodama.

Rezultati dobijeni za koncentraciju SH grupa u u škragama, bubregu i crevu mreke pokazuju statistički značajno povećanje u letnjoj sezoni u poređenju sa prolećnom sezonom. Koncentracija vitamina E pokazuje statistički značajno smanjenje u letnjoj sezoni u odnosu na proleće i ovaj trend zabeležen je u svim ispitivanim tkivima. Naša studija predstavlja prvu procenu koncentracije vitamina E i SH grupa u škragama, bubregu i crevu rečne mreke u srpskom delu Dunava.

Zaključuje se da je sezonska fluktuacija ispitivanih komponenti sistema zaštite od oksidacionih oštećenja u korelaciji sa sezonskim temperaturnim varijacijama.

P 42

## ULOGA POLIMORFIZMA GLUTATION S-TRANSFERAZA A1, M1 I T1 KOD PACIJENATA SA KARCINOMOM BUBREŽNOG PARENHIMA

Vesna Ćorić, Marija Plješa-Ercegovac, Marija Matić, Sonja Šuvakov,  
Jovana Jakovljević, Tatjana Đukić, Ana Savić-Radojević i Tatjana Simić

*Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Medicinski fakultet,  
Dr Subotića 8, 11000 Beograd, Srbija.*

Genetski polimorfizam je prisutan kod mnogih članova superfamilije glutation-S-transferaza (GST). U toku su istraživanja koja ispituju ulogu GST kao biomarkera za nastanak različitih karcinoma, uključujući karcinom bubrežnog parenhima (KBP). U ovoj studiji je ispitivana uloga polimorfizma *GSTA1*, *GSTM1* i *GSTT1* gena u nastanku KBP, nezavisno ili udruženo sa poznatim faktorima rizika za ovaj karcinom.

DNK je izolovana iz krvi 119 kontrola i 109 bolesnika sa KBP. Polimorfizam jednog nukleotida *GSTA1* je određivan analizom polimorfizma dužine restrikcionog fragmenta. Delecioni polimorfizam *GSTM1* i *GSTT1* je određivan reakcijom lančanog umnožavanja. Dobijeni rezultati su analizirani u odnosu na faktore rizika za KBP, uključujući pušenje i profesionalnu izloženost.

Pokazano je da varijantni aleli *GSTA1*, *GSTM1* i *GSTT1* nisu nezavisni faktori rizika za KBP. Međutim postoji značajan efekat *GSTM1-nultog* genotipa kod pušača na povećan rizik za nastanak KBP u odnosu na *GSTM1-aktivne* pušače (OR:4,43; 95%CI:1,98-9,94). Osobe koje su profesionalno izložene imaju 4,41-puta veći rizik za nastanak KBP (95%CI:2,25-8,63). Uočena je modifikacija rizika za nastanak KBP pod uticajem *GSTA1CT+TT* genotipa (OR:4,89;95%CI: 1,86-12,83) kod profesionalno izloženih osoba u odnosu na neizložene nosioce *GSTA1CC* genotipa. Pored toga, pokazan je statistički značajan efekat *GSTM1-nultog* genotipa kod profesionalno izloženih osoba u odnosu na neizložene osobe sa *GSTM1-aktivnim* genotipom (OR:9,11;95%CI: 3,31-25,08). Međutim, prisustvo *GSTT1-aktivnog* genotipa je udruženo sa povećanim rizikom za KBP kod profesionalno izloženih osoba kada su kao referentna grupa uzeti neizloženi nosici *GSTT1-aktivnog* genotipa (OR:3,76; 95%CI:1,77-7,94).

*GSTA1*, *GSTM1* i *GTT1* polimorfizmi, zajedno sa sredinskim faktorima, moduliraju individualanu osetljivost prema karcinomu bubrežnog parenhima.

**P 43**

**ANTIOKSIDATIVNI STATUS PACIJENATA SA RAZLIČITIM STEPENOM OŠTEĆENJA CREVNE SLUZOKOŽE USLED CELIJAČNE BOLESTI**

Vesna Stojiljković<sup>1</sup>, Jelena Kasapović<sup>1</sup>, Snežana Pejić<sup>1</sup>, Ana Todorović<sup>1</sup>,  
Ljubica Gavrilović<sup>1</sup>, Nedeljko Radulović<sup>2</sup>, Zorica S Saičić<sup>3</sup> i Snežana B Pajović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča”, Laboratorija za molekularnu biologiju i endokrinologiju, Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd, Srbija;

<sup>3</sup>Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Beograd, Srbija.

Celijačna bolest je autoimuno oboljenje izazvano pšeničnim glutenom i srodnim proteinima drugih žitarica. Kod genetički predisponiranih osoba gluten aktivira imuni odgovor koji vodi inflamaciji crevne sluzokože. Noviji podaci pokazuju da je ćelijski oksido-redukcioni status uključen u patogenezu celijačne bolesti.

U ovom istraživanju izučavan je antioksidativni status (AO) celijačnih pacijenata sa različitim stepenom oštećenja crevne sluzokože. Merene su aktivnosti AO enzima mangan superoksid dismutaze (MnSOD), bakar, cink superoksid dismutaze (CuZnSOD), katalaze (CAT), glutation peroksidaze (GPx) i glutation reduktaze (GR), kao i koncentracije glutationa (GSH) i lipidnih hidroperoksida (LOOH). Istraživanje je obuhvatilo uzorke crevne sluzokože 55 dece sa celijačnom bolešću. Na osnovu modifikovanih kriterijuma Marsh-a pacijenti su podeljeni na četiri grupe: Marsh 0 - normalna sluzokoža, Marsh 1+ 2 - intraepitelijalna limfocitoza sa ili bez hiperplazije kriпти, Marsh 3a - parcijalna atrofija crevnih resica i Marsh 3b - subtotalna atrofija crevnih resica.

Razlike između analiziranih grupa testirane su Kruskal-Wallis testom. Korelacije između AO parametara i stepena oštećenja sluzokože određene su Spearman-ovim koeficijentom korelacije. Svi parametri osim aktivnosti CuZnSOD i CAT, značajno su varirali: MnSOD:  $H = 8.79$ ,  $P < 0.05$ ; CuZnSOD:  $H = 5.23$ ,  $P > 0.05$ ; CAT:  $H = 5.75$ ,  $P > 0.05$ ; GPx:  $H = 12.61$ ,  $P < 0.01$ ; GR:  $H = 9.81$ ,  $P < 0.05$ ; GSH:  $H = 32.70$ ,  $P < 0.001$ ; LOOH:  $H = 22.92$ ,  $P < 0.001$ . Svi ispitivani parametri značajno su korelirali sa stepenom oštećenja sluzokože.

Rezultati istraživanja jasno pokazuju da je AO status pacijenata sa celijačnom bolešću značajno promenjen, posebno kod onih sa težim oštećenjima crevne sluzokože, ukazujući na oksidativni stres kao važan faktor u patogenezi ovog oboljenja.

**P 44**

**ANTIOKSIDATIVNI STATUS U STUDENTSKOJ POPULACIJI U SRBIJI**

Vesna Vučić, Aleksandra Arsić, Jasna Tepšić i Marija Glibetić

*Institut za medicinska istraživanja, Centar izuzetnih vrednosti u oblasti istraživanja ishrane i metabolizma, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija.*

Reaktivne kiseonične vrste su proizvodi ćelijskog metabolizma koji imaju značajnu ulogu u razvoju mnogih bolesti. Različiti faktori, uključujući pušenje, fizičku aktivnost, nepravilnu ishranu i stres, mogu doprineti povećanju oksidativnog stresa. Naša prethodna istraživanja su pokazala da studenti imaju veoma loše navike u ishrani: preskakanje obroka, nepravilno vreme obroka, brza hrana i česta zamena obroka grickalicama. Zato je cilj ove studije bio da se ispita antioksidativni status studentske populacije u Srbiji.

U preliminarnu studiju je uključeno 40 zdravih studenata, 19 ženskog i 21 muškog pola, starih 20-25 godina, koji su nepušači i ne bave se aktivno sportom. Krv je uzimana iz vene, ujutru nakon 12-časovnog gladovanja. Određivani su sledeći parametri: totalni antioksidativni status (TAS), aktivnost antioksidativnih enzima superoksid-dismutaze (SOD), glutation-reduktaze (GR) i glutation-peroksidaze (GP).

Rezultati su pokazali da su aktivnosti antioksidativnih enzima u granicama referentnih vrednosti, ali da je TAS ispod preporučenog nivoa. Poređenje rezultata u odnosu na pol ispitanika pokazalo je da nema značajne razlike u aktivnosti enzima antioksidativne odbrane – SOD, GR i GP. TAS je, međutim, bio značajno viši u muškoj ( $1.21 \pm 0.07$  mmol/L) nego u ženskoj studentskoj populaciji ( $1.07 \pm 0.12$  mmol/L), pri čemu su obe grupe nešto ispod referentnih vrednosti (1.3-1.77 mmol/L).

S obzirom da je TAS u direktnoj korelaciji sa koncentracijom antioksidativnih vitamina A, C i E u plazmi, može se zaključiti da je unos ovih vitamina snižen kod studenata. Promena dijetarnih navika u cilju prevencije mnogih hroničnih bolesti u kasnijem životu bila bi od velikog značaja za ispitivanu populaciju.

P 45

### FLUIDNOST MEMBRANE ERITROCITA NAKON APLIKACIJE ESENCIJALNOG ULJA BILJKE *Vitex agnus-castus*

Vladimir Ajdžanović<sup>1\*</sup>, Ivan Spasojević<sup>2\*</sup>, Jasmina Pantelić<sup>1</sup>, Branka Šošić-Jurjević<sup>1</sup>,  
Branko Filipović<sup>1</sup>, Svetlana Trifunović<sup>1</sup> i Verica Milošević<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Odeljenje za Citologiju, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”,  
Univerzitet u Beogradu, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

<sup>2</sup>Odeljenje za Žive Sisteme, Institut za multidisciplinarna istraživanja, Univerzitet u  
Beogradu, Kneza Višeslava 1, 11000 Beograd, Srbija.

\*Autori su podjednako doprineli radu.

Fluidnost membrane eritrocita predstavlja značajan aspekt hemodinamike, narušene u kardiovaskularnim bolestima praćenim suženjem lumena krvnih sudova. Starenje kod žena nosi sa sobom povećan rizik oboljevanja od različitih kardiovaskularnih bolesti, uglavnom uzrokovanih oksidativnim stresom. Simptomi menopauze se obično tretiraju hormonskom terapijom, koja povećava verovatnoću razvoja maligniteta. Esencijalno ulje biljke *Vitex agnus-castus* L. (*Vac*), koje se koristi kao alternativni terapeutik menopausalnih simptoma, sadrži različita organska jedinjenja (monoterpe, seskviterpene i terpenoide) sa sposobnošću ugradnje u ćelijsku membranu i promene njene fluidnosti. Cilj ove studije je bio da se utvrde efekti esencijalnog ulja *Vac* na fluidnost membrane eritrocita, na različitim dubinama.

Korišćena je Elektron Paramagnetno Rezonantna (EPR) spektroskopija i masno kiselinke spin-probe (5-DS i 12-DS) koje poseduju sposobnost da se ugrade u membranu. Njihovi EPR spektri zavise od fluidnosti i omogućavaju da parametar uređenosti (S) membrane (recipročan je fluidnosti), bude izračunat. Nakon tretmana esencijalnim uljem *Vac* eritrociti su pokazali značajno ( $p=0.029$ ) i reverzibilno povećanje fluidnosti membrane u dubljim, hidrofobnim regionima, bez značajnih efekata na fluidnost blizu hidrofilne površine membrane.

Ovi rezultati ukazuju da esencijalno ulje *Vac*, zahvaljujući povećanju fluidnosti u dubini membrane eritrocita, verovatno predstavlja alternativni terapijski izbor kod kardiovaskularnih oboljenja koja uključuju suženje lumena krvnih sudova. Neželjeni prateći efekat ove terapije predstavljala bi olakšana lateralna difuzija slobodnih radikala kroz ćelijske membrane, usled povećanja njihove fluidnosti nakon aplikacije esencijalnog ulja *Vac*.



**P 46**

**UTICAJ PRENATALNE TERMALNE MANIPULACIJE KOD BROJLERSKIH  
PILIĆA NA STVARANJE TERMOREGULACIONE MEMORIJE  
POSREDOVANE HIPOTALAMO-HIPOFIZNO-TIREOIDNOM OSOVINOM**

Zdenko Kanački, Slobodan Stojanović, Gordana Ušćebrka, Dragan Žikić i Josip Krnić

*Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Odeljenje za veterinarsku medicinu, Trg Dositeja Obradovica 8, 21000 Novi Sad, Srbija.*

Tokom prvih dana života ptice se ponašaju kao poikilotermni, odnosno nesavršeni homeotermni organizmi. Tek kasnije u toku razvoja pilići postaju potpuni homeotermni organizmi koji mogu uskladiti procese termogeneze i termolize sa ambijentalnim uslovima. U cilju razvijanja termotolerancije i prevazilaženja termalnog stresa predložen je model epigenetske adaptacije zasnovan na perinatalnoj termalnoj manipulaciji. Ovaj pristup se zasniva na pretpostavci da faktori sredine (pre svega temperatura) utiču na formiranje fizioloških mehanizama kontrole termoregulacije po principu "pravila determinacije". Termoregulacioni odgovor je u značajnom stepenu posredovan intenzitetom metabolizma na koji u velikom obimu utiču tireoidni hormoni. Cilj ovog rada je bio ispitivanje uticaja termalne manipulacije na nivo slobodnih tireoidnih hormona tokom embrionalne i postnatalne faze razvoja brojlerskih pilića.

Za ogled su korišćena oplodena jaja teškog hibrida „Ross 308“, poreklom od roditeljskog jata u uzrastu od 54 nedelje, koja su podeljena u dve ogledne grupe (Og), po 100 u svakoj grupi: OgC (kontrola) i OgTM (termalna manipulacija). Nivoi slobodnih tireoidnih hormona u krvnoj plazmi su određivani imunoenzimskim metodama uz korišćenje odgovarajućih test kitova proizvođača „Adaltis“, Milano, Italija.

Tokom embrionalnog perioda razvoja nije postojala statistički značajna razlika u nivoima fT3 i fT4. Statistički značajno viši nivo fT3 ( $p < 0,05$ ) je zabeležen kod OgTM u odnosu na OgC u toku prvog dana postnatalnog razvoja, što se ujedno poklapa i sa padom nivoa fT4. Tokom kasnijeg perioda postnatalnog razvoja nije postojala statistički značajna razlika u nivoima fT3 i fT4. Dobijeni rezultati ukazuju da osnovu ovog procesa predstavlja hipotalamo-hipofizno-tireoidna osovina, kao i da značajan uticaj ima proces monodejodinacije tiroksina u trijodtironin.

## **INDEKS AUTORA**

### **A**

Ajdžanović, Vladimir	79
Al-Abed, Yousef	18, 64
Andrić, A Silvana	16, 28, 61, 63, 70
Arambašić, Jelena	15
Arsić, Aleksandra	35, 74, 78

### **B**

Babić, Goran	23, 67, 69
Baburski, Z Aleksandar	16, 28, 61, 63, 70
Baralić, Ivana	21
Barudžić, Nevena	29, 44
Bašić, Jelena	25
Bjelić, M Maja	16, 28, 61, 63, 70
Blaževski, Jana	47, 50
Bogavac-Stanojević, Nataša	21
Borković-Mitić, Slavica	30, 41, 52, 71, 72, 73, 75
Borozan, Sunčica	35, 74
Branković, Branko	25
Bulatović, Mirna	68
Buzadžić, Biljana	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59

### **C**

Cakić, Predrag	75
Cvetković, Danijela	33, 42, 66
Cvetković, Tatjana	25

### **Č**

Čolović, Mirijana	31
-------------------	----

### **Ć**

Ćorić, Vesna	17, 32, 55, 76
Ćurčić, Milena	33, 42, 66

### **D**

Damjanović, Tatjana	32
Debeljak-Martačić, Jasmina	74
Despotović, Svetlana	30, 41, 52, 71, 72, 73, 75
Dimković, Nada	32

Dinić, Svetlana	15, 64
Dragičević, Dejan	17
Dragišić Maksimović, Jelena	51
Dragojević, Ilija	40
Dronjak, Slađana	60
Dulović, Marija	27, 49, 62

## **Đ**

Đačić, Dragana	33, 42, 66
Đorđević, Z Nataša	23, 54, 67, 69
Đorđević, Brižita	21
Đukić, Tatjana	17, 32, 55, 76
Đurić, Dragan	29, 31, 44

## **F**

Filipović, Branko	79
Filipović, R Miloš	39

## **G**

Garalejić, Eliana	13, 39
Gavrić, Jelena	30, 41, 52, 71, 72, 73, 75
Gavrilović, Ljubica	53, 60, 77
Glibetić, Marija	74, 78
Gligić, Ana	19
Glodović, Verica	33, 56
Golić, Igor	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59
Grdović, Nevena	15, 64

## **H**

Hrnčić, Dragan	31
----------------	----

## **I**

Ilić, Aleksandra	40
Ilić, Jasmina	26
Ilić, Marina	19
Isaković, M Anđelka	27, 38
Isaković, Aleksandra	27, 49, 62
Ivanišević, Jasmina	26
Ivanović-Burmazović, Ivana	39

## **J**

Jakovljević, Vladimir	19, 29, 44
Jakovljević, Jovana	17, 55, 76
Janjić, M Marija	16, 28, 61, 63, 70
Janković, Aleksandra	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59
Jelić-Ivanović, Zorana	14, 21, 26
Jeremić, Ivica	49
Jevtović-Stoimenov, Tatjana	12, 25
Jovanović, Maja	62
Jovanović, Marina	19

## **K**

Kalimanovska-Spasojević, Vesna	14
Kaluđerović, Goran	50, 68
Kanački, Zdenko	80
Kasapović, Jelena	53, 60, 77
Kisić, Bojana	40, 43
Knežević, Veroljub	54
Kocić, Gordana	12, 25
Koko, Vesna	45
Korać, Aleksandra	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59
Korać, Bato	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59
Kosanović, Katica	57
Kostić, S Tatjana	16, 28, 61, 63, 70
Kostić, Vladimir	62
Kotur-Stevuljević, Jelena	14, 21, 26
Krivić, Biljana	17
Krnić, Josip	80
Krstić, Danijela	31

## **L**

Lazić, Emilija	46
Lazić, Jelena	27

## **M**

Macanović, Biljana	13, 39
Maksić, Nebojša	31
Maksimović, Vuk	51
Maksimović-Ivanić, Danijela	18, 64, 68
Marinković, Milena	25
Markelić, Milica	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59
Marković, Jelena	15
Marković, Snežana	33, 36, 42, 56, 66
Marković, Ivanka	27, 38, 49, 62
Matić, Marija	17, 32, 55, 76
Matić, M. Miloš	23, 54, 67, 69

Matović, Zoran	36, 66
Mazić, Sanja	35
Mihailović, Mirjana	15
Mihajlović, I Aleksandar	16, 28, 61, 63, 70
Mijatović, Sanja	18, 64, 68
Miljković, Đorđe	18, 47, 50, 64, 68
Miljković, Milica	26
Milošević, Verica	79
Milošević, Slaviša	71
Mimić-Oka, Jasmina	17
Mirić, Dijana	40, 43
Misirlić Denčić, Sonja	27, 38
Mladenović, Dušan	31, 65
Mladenović, M Jelena	54
Mojić, Marija	18, 64, 68
Mojović, Miloš	51
Momčilović, Miljana	47, 50
Mostarica Stojković, Marija	47, 50
Mrkalić, Emina	36, 66

## **N**

Nikoletti, Ferdinando	18, 64
Nikolić, Tatjana	19
Nikolić, Miroslav	51
Ninković, Milica	65

## **O**

Obradović, Ana	36, 56
Ognjanović, I Branka	23, 41, 54, 67, 69
Otašević, Vesna	12, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59

## **P**

Pajović, B Snežana	41, 53, 60, 72, 75, 77
Pantelić, Jasmina	79
Paschke, Reinhard	50, 68
Paunović, Momir	52, 72, 73
Pavlović, Slađan	30, 41, 52, 71, 72, 73, 75
Pavlović, Dušica	12, 25
Pejić, Snežana	53, 60, 77
Pekmezović, Tatjana	17
Perendija, Branka	30, 41, 52, 71, 72, 73, 75
Petković, Filip	47, 50
Petronijević, D Nataša	19, 49
Petrović, Snježana	31
Petrović-Kosanović, Dragana	45

Plješa, Steva	32
Plješa-Ercegovac, Marija	17, 32, 55, 76
Popović, Nataša	53
Popović, Tamara	74
Poznanović, Goran	15

## **R**

Radić, Gordana	33, 56
Radonjić, V Nevena	19, 49
Radosavljević, Tatjana	31, 65
Radovanović, Tijana	30, 41, 52, 71, 72, 73, 75
Radulović, Anika	36, 56
Radulović, Nedeljko	77
Rašić-Marković, Aleksandra	31

## **S**

Sabo, Tibor	27
Saičić, S Zorica	23, 30, 41, 52, 53, 54, 57, 67, 69, 71, 72, 73, 75, 77
Savić-Radojević, Ana	17, 32, 55, 76
Simić, Tatjana	17, 32, 55, 76
Simić, Snežana	41
Sokanović, J Srđan	16, 28, 61, 63, 70
Sokolović, Dušan	25
Sopić, Miron	21
Spasić, Slavica	14, 26
Spasojević, Ivan	79
Srdić, Biljana	58
Stančić, Ana	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59
Stanković, Milan	33, 42, 66
Stanković, Marija	65
Stanković, Vesna	59
Stanojević, Goran	25
Stanojlović, Olivera	31
Stefanović, Aleksandra	14, 21, 26
Stevanić, Dušan	19
Stojanović, Ivana	25
Stojanović, Slobodan	80
Stojiljković, Vesna	53, 60, 77
Stojkov, J Nataša	16, 28, 61, 63, 70
Stokić, Edita	58
Stošić-Grujičić, Stanislava	18, 64, 68

## **Š**

Šošić-Jurjević, Branka	79
------------------------	----

Štajn, Š. Andraš	23, 54, 67, 69
Šurlan, Lela	59
Šuvakov, Sonja	17, 32, 55, 76

## **T**

Tepšić, Jasna	78
Todorović, Ana	60, 77
Tomašević, Tina	65
Trajković, Vladimir	27, 49, 62
Trifunović, Srećko	33, 56
Trifunović, Svetlana	79
Tulić, Ivan	59

## **U**

Ušćebrka, Gordana	80
Uskoković, Aleksandra	15

## **V**

Veličković, Ksenija	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59
Veljković, Andrej	25
Vidaković, Melita	15
Videnović, Jelica	26
Vučetić, Milica	13, 22, 24, 37, 39, 46, 48, 58, 59
Vučević, Danijela	65
Vučić, Vesna	35, 74, 78
Vučinić, Violeta	26
Vujić, Dragana	46
Vuletić, Mirjana	44
Vuletić, Milena	29

## **Z**

Zelenović, Nevena	37
Zogović, Nevena	27

## **Ž**

Žikić, Dragan	80
Živanović, Marko	33, 66
Živković, Vladimir	29, 44
Žižić, Jovana	36, 56
Žorić, Lepša	40



# KEFO<sup>®</sup>

SINCE 1949

je od 2010. godine  
ekskluzivni zastupnik za Srbiju i Crnu Goru  
renomirane kompanije :

Heidolph Instruments, koja je vodeći proizvođač laboratorijske opreme, prisutna u više od 100 zemalja sveta. Sediste kompanije je u Schwabachu, gradicu u blizini Nirnberga u Nemačkoj, gde se sva oprema i proizvodi.

Pred nama je Nova 2011. godina—  
medjunarodna  
GODINA HEMIJE na  
celoj nasoj plavoj  
planeti. Pozivamo  
Vas da posetite  
[www.chemistry2011.org](http://www.chemistry2011.org)



**3 godine garancije!**





xCELLigence

LightCycler® 480 System



LightCycler® Nano

***ADOC*** Dijagnostika d.o.o.  
Milorada Jovanovica 9, 11000 Beograd

---

tel: +381 11 2500 955, tel: +381 63 322 234, tel/fax: +381 11 2500 966

ALFATRADE

CIP - Каталогизација у публикацији  
Народна библиотека Србије, Београд

576.311.347(048)  
57+61(048)

КОНГРЕС Митохондрије и слободни радикали у  
биомедицини - перспективе (1 ; 2011 ;  
Београд)

Књига сажетака / Први конгрес  
Митохондрије и слободни радикали у  
биомедицини - перспективе, 24. септембар  
2011., Београд, Србија ; [organizatori Српско  
друштво за митохондријалну и  
слободно-радикалску физиологију ... et al.] ;  
уредници Бато Кораћ, Весна Оташевић. -  
Београд : Српско друштво за митохондријалну и  
слободно-радикалску физиологију :  
Министарство за науку и технолошки развој :  
Институт за биолошка истраживања "Синиша  
Станковић" : Фармацеутски факултет : Биолошки  
факултет : Медицински факултет, 2011 (Београд  
: Rival Copy). - 87 стр. ; 25 cm

Тираж 200. - Регистар.

ISBN 978-86-912893-1-7 (SDMSRF)  
1. Кораћ, Бато [уредник] 2. Српско друштво  
за митохондријалну и слободно-радикалску  
физиологију (Београд)  
а) Митохондрије - Слободни радикали -  
Апстракти б) Биомедицина - Апстракти  
COBISS.SR-ID 186214668

