

SRPSKO DRUŠTVO ZA MITOHONDRIJALNU
I SLOBODNO-RADIKALSKU FIZIOLOGIJU

DRUGI KONGRES

ŽIVOT SA SLOBODNIM RADIKALIMA

- HEMIJA - BIOLOGIJA - MEDICINA -



KNJIGA SAŽETAKA
Niš, 28. SEPTEMBAR 2013.

KNJIGA SAŽETAKA

Drugi Kongres

Život sa slobodnim radikalima: Hemija, Biologija, Medicina

**28. septembar 2013.
Niš, Srbija**

SDMSRF-2013

**Urednici:
Bato Korać
Vesna Otašević**

Izdavač:

Srpsko društvo za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju
Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja
Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet
Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet

Za izdavača:

Bato Korać
Tomislav Jovanović
Jelena Knežević-Vukčević
Stevan Ilić

Urednici:

Bato Korać
Vesna Otašević

Tehnički urednici:

Vesna Otašević
Aleksandra Janković
Milica Vučetić

Dizajn:

Aleksandra Janković

Štampa: "Alta nova printing house": 200 primeraka

Autorska prava © 2013 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: 978-86-912893-2-4

Poštovane kolegice i kolege,

U ime Srpskog društva za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju želim da se zahvalim i pozdravim sve učesnike drugog Kongresa: „Život sa slobodnim radikalima: Hemija, Biologija, Medicina“, koji se održava u Nišu, 28. septembra 2013. godine, na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Nišu. Sa zadovoljstvom ističemo da je ovaj skup Društva najbrojniji do sada, da su prispeli radovi visokog kvaliteta i da će biti prepoznatljiv po učešću studenata master i doktorskih studija.

Danas nam ideja da slobodni radikali egzistiraju u našem telu i da imaju važne uloge u patogenezi i tretmanu bolesti, metabolizmu, regulaciji fizioloških procesa ..., izgleda kao daleka istorija. Redoks biologija se toliko odomaćila u naučnom životu i radu da predstavlja svakodnevnicu brojnim istraživačima, u svetu i kod nas u Srbiji. Sa ponosom možemo reći da mladi naučnici započinju svoju karijeru u ovoj oblasti, da je taj rad, njihov i naš život. Na taj način i naša naučna zajednica u Srbiji, preko Srpskog društva za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju, postaje deo te istorije.

Drugi Kongres je još jedna stepenica tog kontinuiteta, a mesto i vreme njegovog održavanja naš mali doprinos Nišu, proslavi 1700 godina Milanskog edikta.

Organizacioni odbor Kongresa očekuje jedinstvenu atmosferu, istu koju su na prethodnim skupovima gradili istraživači iz cele Srbije. Kroz plenarna predavanja, predavanja po pozivu, poster prezentacije i kraća usmena saopštenja pruža se prilika svim istraživačkim grupama i mladim naučnicima da prezentuju svoje rezultate.

Sa uverenjem da zajedno uspostavljamo nove odnose u suživotu sa slobodnim radikalima, ovde u Nišu, očekujemo da razmenimo saznanja između dva kongresa, da ukažemo na tajne koje nam život sa slobodnim radikalima skriva, čekajući da nam pruži ushićenje prvog susreta.

Ispred Društva i organizacionog odbora Kongresa želim vam dobrodošlicu.

Bato Korać,
predsednik Društva

ORGANIZATORI

Srpsko društvo za mitohondrijalnu i slobodno-radikalnu fiziologiju

Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije

Univerzitet u Beogradu:

Biološki fakultet

Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“

Farmaceutski fakultet

Medicinski fakultet

Hemijski fakultet

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo

Univerzitet u Nišu:

Medicinski fakultet

Univerzitet u Novom Sadu:

Poljoprivredni fakultet

Prirodno-matematički fakultet

Univerzitet u Kragujevcu:

Prirodno-matematički fakultet

Univerzitet u Prištini sa sedištem u Kosovskoj Mitrovici:

Prirodno-matematički fakultet

PROGRAMSKI ODBOR KONGRESA I NAUČNI ODBOR DRUŠTVA

Predsednik odbora:

Bato Korać, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

Članovi:

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

Dragan Antić, Univerzitet u Nišu, Elektronski fakultet.

Biljana Buzadžić, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

Gordana Cvijić, Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet.

Dragan Đurić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet.

Stevan Ilić, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet.

Aleksandra Janković, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

Selma Kanazir, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

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.

Nada Kovačević, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet.

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

Danijela Maksimović-Ivanić, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

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

Sanja Mijatović, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

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, IBISS.

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

Dušica Pavlović, Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet.

Zorica Saičić, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

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

Tatjana Simić, Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet.

Mihajlo Spasić, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

Slavica Spasić, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet.

Ana Stančić, Univerzitet u Beogradu, IBISS.

Sladana Šobajić, Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet.

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

Gordana Ušćebrka, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet.

Program

8:30 – 9:30 Registracija

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

Profesor Ivica Radović, Pomoćnik ministra, Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije

Profesor Zoran S. Nikolić, Prorektor Univerziteta u Nišu

Profesor Stevan Ilić, Dekan Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu

9:50 – 10:20 Plenarno predavanje (30 minuta)

predsedavajući: Snežana Pajović, Ivana Stojanović

Bato Korać, *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

Život sa slobodnim radikalima: između anarhije i hijerarhije

10:20 – 10:40 Predavanje po pozivu (20 minuta)

Nataša Stojkov, *Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad*

Molekularne adaptacije mitohondrija Leydig-ovih ćelija u stresu

10:40 – 11:30 Kratka saopštenja (3 x 15 minuta)

Andrej Veljković, *Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Niš*

Ispitivanje parametara oksidativnog stresa, bcl/bax odnosa i endonukleazne aktivnosti kod obolelih od kolorektalnog karcinoma

Mirna Bulatović, *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

Novi pristup u terapiji melanoma: mezoporozni nanomaterijali kao nosioci citostatika

Tatjana Đukić, *Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd*

Glutation transferaze klase omega: mehanizam delovanja i značaj u medicini

11:30 – 12:00 Pauza za kafu (30 minuta)

12:00 – 12:40 Predavanja po pozivu (2 x 20 minuta)

predsedavajući: Gordana Kocić, Vesna Otašević

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

Poliamini - modulatori ćelijskog rasta, oksidativnog stresa i epigenetskih procesa: stari molekuli, nova saznanja

Selma Kanazir, *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

Metabolizam holesterola u mozgu i starenje

12:40 – 14:00 Kratka saopštenja (5 x 15 minuta)

Marija Janjić, *Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad*

Uloga testosterona u regulaciji NO signalnog puta u Leydig-ovim ćelijama

Milica Vučetić, *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

Redoks mehanizmi metaboličke kontrole u hibernaciji

Nemanja Stanisavljević, *Univerzitet u Beogradu, IMGGI, Beograd*

Proizvodnja peptida sa antioksidativnom aktivnošću hidrolizom proteina semena graška pomoću sojeva roda *Lactobacillus*

Marija Dulović, *Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Beograd*

Oksidativni stres u osnovi antitumorskog dejstva novosintetisanih supstanci organske prirode

Jelena Dinić, *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

Antioksidativna i citoprotektivna aktivnost diarilheptanoida iz kore *Alnus glutinosa*

14:00 – 15:30 Ručak i prezentacija postera

15:30 – 16:10 Predavanja po pozivu (2 x 20 minuta)

predsedavajući: Bato Korać, Jelena Kotur Stevuljević

Jelena Vekić, *Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Beograd*

Biomarkeri oksidativnog stresa i dislipidemije u aterosklerozi

Andrija Šrek, *Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine, Novi Sad*

Funkcionalna hrana u dečjem uzrastu: antioksidanti, vitamini, minerali i fitonutrijenti

16:10 – 17:30 Kratka saopštenja (5 x 15 minuta)

Milica Miljković, *Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Beograd*

Nivo oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u lipoproteinskim frakcijama kod bubrežnih bolesnika

Srdan Ljubisavljević, *Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Niš*

Komparativna analiza patogenetskog značaja oksidativnog i nitrozativnog stresa u različitim kliničkim fenotipovima neuroinflamacije: moguće dijagnostičke i terapijske perspektive

Jovana Žižić, *Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Kragujevac*

Efekte flavonoida izolovanih iz propolisa na redoks status ćelijskih linija humanog karcinoma kolona i dojke

Anja Petrović, *Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Beograd*

Antinekrotski efekat melatonina u jetri dijabetičnih pacova

Danijela Karanović, *Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja, Beograd*

Losartan poboljšava lipidni status i ublažava oksidativni stres u eksperimentalnoj adriamicinskoj nefropatiji

17:30 – Svečano zatvaranje Kongresa i dodela nagrada

PLENARNO PREDAVANJE

ŽIVOT SA SLOBODNIM RADIKALIMA: IZMEĐU ANARHIJE I HIJERARHIJE

Milica Vučetić¹, Aleksandra Janković¹, Ana Stančić¹, Vesna Otašević¹, Biljana Buzadžić¹ i Bato Korac^{1,2}

¹*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;*

²*Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija.*

Jedan od najvećih paradoksa u biomedicinskim istraživanjima danas je oksidativni i/ili antioksidativni paradoks. Život je nastao i razvija se sa njim u svojoj osnovi. Poznavanje hemije i biologije reaktivnih vrsta neophodno je za razumevanje molekulskih mehanizama njihovog delovanja u brojnim patofiziološkim stanjima.

Na molekulskom nivou, snaga koja usmerava ka entropiji i slučajnosti mogla bi biti verovatnija kada govorimo o redoks biologiji. Nasuprot tome, današnja saznanja o reaktivnim vrstama i slobodnim radikalima govore da su oni uključeni u sve procese aerobnog života i da je kako njihova produkcija, tako i indukcija antioksidativnih komponenti pod striktnom transkripcijom, translacionom i postranslacionom kontrolom.

Šta više, činjenica da slobodni radikal može biti i oksidant i antioksidant, a antioksidanti i produceri slobodnih radikala, uspostavlja nove standarde i potrebu za razumevanje regulatornih principa. Širok je niz ovih naizgled paradoksa: fito-komponente mogu biti i oksidanti i antioksidanti, aktivatori endogene antioksidativne odbrane ili njeni atenuatori. Dualizam se vidi i u redoks regulaciji kancera, dijabetesa, u neurodegenerativnim stanjima, fertilizacionom procesu, starenju... Intrigantni su mehanizmi redoks regulacije u hibernaciji, veza sa mitohondrijalnom oksidativnom fosforilacijom i energetskim metabolizmom.

Ovo je pokušaj da se sagledaju dostignuća redoks biologije kao naučne discipline, molekulski mehanizmi regulacije fizioloških procesa koji leže u njenoj osnovi i ukaže na otvorena pitanja.

PREDAVANJA PO POZIVU

MOLEKULARNE ADAPTACIJE MITOHONDRIJA LEYDIG-OVIH ĆELIJA U STRESU

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

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

Leydig-ove ćelije testisa proizvode testosteron, muški polni hormon, procesom steroidogeneze. S obzirom da se ograničavajuće faze steroidogeneze odvijaju u mitohondrijama, broj i funkcionalno stanje ovih organela su od suštinske važnosti za nesmetanu produkciju testosterona. Energisane, polarizovane i metabolički aktivne mitohondrije su neophodne za proces biosinteze testosterona. U Leydig-ovim ćelijama stresiranih životinja registrovane su značajne promene na nivou mitohondrija. Akutni stres smanjuje funkcionalnost mitohondrija (membranski potencijal mitohondrija, potrošnju kiseonika i produkciju ATP), što je uz porast oslobađanja citohroma *c* iz mitohondrija, evidentan pokazatelj mitohondrijalnog puta aktivacije apoptoze u Leydig-ovim ćelijama stresiranih životinja.

Ponavljani stres aktivira u Leydig-ovim ćelijama mehanizme za "borbu/adaptaciju" koji se manifestuju kroz oporavak funkcionalnosti mitohondrija, stimulaciju ekspresije/aktivnosti proteina koji regulišu steroidogenezu, a nalaze se na membrani mitohondrija (STAR, PRKA), kao i ekspresiju i redistribuciju kinaza za oporavak (pERK1/2, ERK1/2, AKT). Intratestikularni glukokortikoidni receptori posreduju pro-apoptotičke efekte akutnog stresa na Leydig-ove ćelije, a α 1-adrenergični receptori posreduju anti-apoptotičke efekte deset puta ponovljenog stresa. Pored oporavka funkcionalnosti mitohondrija, ponavljani stres indukuje u Leydig-ovim ćelijama ekspresiju transkripcionih faktora (PGC-1 α , NRF2) i AMPK koji pokreću ćelijski program stvaranja mitohondrija tj. koji su markeri mitohondrijalne biogeneze.

S obzirom na centralnu ulogu mitohondrija u produkciji ATP, ali i u biosintezi testosterona, nije iznenađujuće da postoje višestruki nivoi molekularnih adaptacija koji se aktiviraju u Leydig-ovim ćelijama stresiranih životinja. Imajući u vidu kompleksnost održanja homeostaze mitohondrijalnog pula, najveći broj adaptacija vezanih za mitohondrijalnu dinamiku u ćelijama koje stvaraju steroidne hormone tek treba da bude otkriven.

Rad je finansiran sa projekata: APV3417, OII173057 i SCOPESIZ73Z0_128070.

POLIAMINI – MODULATORI ĆELIJSKOG RASTA, OKSIDATIVNOG STRESA I EPIGENETSKIH PROCESA: STARI MOLEKULI, NOVA SAZNAJNA

Dušica Pavlović, Ivana Stojanović, Dušan Sokolović, Gordana Kocić, Tatjana Jevtović Stoimenov, Tatjana Cvetković, Milena Marinković, Branka Đorđević i Gordana Bjelaković

Univerzitet u Nišu, Institut za biohemiju, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija.

Poliamini, spermin i spermidin, kao i diamini putrescin predstavljaju polikatione široko rasprostranjene u ćelijama prokariota i eukariota i u biološkim tečnostima. Poznata je njihova uloga u regulaciji ćelijskog rasta, diferencijaciji, sintezi nukleinskih kiselina i proteina. Promena njihove koncentracije u maligno izmenjenim tkivima može biti značajni marker u prognozi preživljavanja pacijenata obolelih od karcinoma.

Ovi ćelijski kationi antioksidativna svojstva ne ostvaruju samo pasivnom interakcijom sa fosfolipidima, već direktno reaguju sa ROS (*engl.* reactive oxygen species, ROS), i pri nižim koncentracijama od fizioloških, što je dokazano metodom luminol zavisne hemiluminiscencije u sistemu ksantin/ksantinoksidaza, kao i u Fe^{2+} - izazvanoj peroksidaciji fosfolipidnih lipozoma. S druge strane, u složenom putu njihove razgradnje i interkonverzije, pod dejstvom enzima SSAT, PAO, SMO i DAO, nastaju vodonik peroksid (H_2O_2) i toksični aminoaldehidi koji indukuju apoptozu i intenziviraju oksidativni stres. Poznato je da je koncentracija spermidina u svim tkivima najviša na rođenju, a progresivno opada sa starenjem. Ovu dugogodišnju enigmnu tek nedavno rasvetljavaju saznanja o ulozi spermidina u stimulaciji autofagije, što ga može uvrstiti na spisak potencijalnih lekova za dugovečnost. Takođe je nedavno pokazano da spermidin smanjuje inflamaciju, koja predstavlja prvu kariku u razvoju kancera, degenerativnih i autoimunskih bolesti. Stoga, poliamini i njihovi oksidacioni produkti, kao modulatori suprotno usmerenih pojava i efekata (proliferacija i apoptoza, antioksidanti i prooksidanti), uveliko postaju target adjuvantne terapije različitih vrsta tumora, kao i oblast istraživanja u autoimunim i hroničnim inflamatornim bolestima.

Intencija daljih istraživanja je da se rasvetljavanjem uloge poliamina u epigenetskim promenama unapredi efikasnost korišćenja modulatora metabolizma poliamina. Identifikacija i kvantifikacija nivoa ekspresije poliamin zavisnih gena u budućnosti možda će dati vredne informacije o riziku za nastanak kancera, hroničnih inflamatornih i autoimunih bolesti. Uloga poliamina u različitim modifikacijama hromatina u tzv. "histonskom kodu" je ono što ih danas čini aktuelnim i daje novi osvrt na stare dogme.

METABOLIZAM HOLESTEROLA U MOZGU I STARENJE

Selma Kanazir¹, Kosara Smiljanić¹, Aleksandra Mladenović-Dorđević¹, Milka Perović¹,
Ljubisav Rakić² i Sabera Ruždijić¹

¹*Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;*

²*Srpska Akademija Nauka i Umetnosti, Beograd, Srbija.*

Iako mozak čini samo oko 2% mase tela, on sadrži 5-10 puta više holesterola nego bilo koji drugi organ. Holesterol je najzastupljeniji lipid u ćelijama sisara. Učestvujući u izgradnji fosfolipidnog dvosloja bioloških membrana, on reguliše njihovu fluidnost, propustljivost i rigidnost, a samim tim i funkcionalna svojstva membranskih proteina. Metabolizam holesterola predstavlja važan aspekt sinaptičke plastičnosti, jer je pokazano da je holesterol neophodan za biogenezu i transport sinaptičkih vezikula, formiranje aksona i sinapsi, kao i za procese učenja i pamćenja. Zbog postojanja krvno-moždane barijere metabolizam holesterola u mozgu je potpuno autonoman i održava se serijom međusobno povezanih i dobro regulisanih procesa sinteze, transporta i katabolizma. Narušavanje homeostaze holesterola povezano je sa brojnim starosno-zavisnim neurodegenerativnim poremećajima, uključujući i Alchajmerovu bolest.

Gasnom hromatografijom/masenom spektrometrijom (GC/MS) praćena je količina prekursora holesterola, kao i njegovih metabolita tokom starenja u mužjacima pacova soja Wistar. Takođe, analiziran je i sadržaj biljnih sterola poreklom iz hrane u svetlu sve šire primene hrane obogaćene ovim sterolima. Praćene su i promene u ekspresiji proteina koji su uključeni u procese sinteze, razgradnje i transporta holesterola u mozgu. Dinamika promena tokom starenja analizirana je u korteksu i hipokampusu, regijama mozga najosetljivijim na procese starenja.

Rezultati su pokazali da tokom starenja ne dolazi do promene ukupne količine holesterola u mozgu, ali se na osnovu količine njegovih prekursora može zaključiti da dolazi do redukcije sinteze holesterola, dok je katabolizam nepromenjen. Takođe, tokom starenja se akumuliraju biljni steroli u mozgu. Dobijene promene su regionalno-specifične i ukazuju na značaj održanja homeostaze holesterola u mozgu tokom starenja.

BIOMARKERI OKSIDATIVNOG STRESA I DISLIPIDEMIJE U ATEROSKLEROZI

Jelena Vekić, Jelena Kotur-Stevuljević, Aleksandra Zeljković, Vesna Spasojević-Kalimanovska, Aleksandra Stefanović, Nataša Bogavac-Stanojević, Slavica Spasić i Zorana-Ivanović

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

Razvoj ateroskleroze podrazumeva sadejstvo dislipidemije i oksidativnog stresa. Dosadašnja istraživanja ukazuju da su male, guste čestice lipoproteina niske gustine (LDL) podložnije oksidaciji, dok se malim česticama lipoproteina visoke gustine (HDL) usled oksidativnog stresa smanjuje antioksidativni potencijal. U skladu sa tim, potencijalni biomarkeri oksidativnog stresa i aterogene dislipidemije mogu imati važnu ulogu u predviđanju kardiovaskularnog rizika. Cilj ove studije je ispitivanje parametara oksidativnog stresa, dislipidemije i statusa enzima paraoksonaze (PON1) u populaciji zdravih sredovečnih osoba i različitim kategorijama pacijenata sa povišenim rizikom za nastanak ateroskleroze.

U istraživanju je učestvovalo 207 zdravih ispitanika, 114 pacijenata sa tipom 2 dijabetes melitusa, 77 pacijenata sa sarkoidozom, 122 pacijenta na hemodijalizi i 21 pacijent sa transplantiranim bubregom. Svim ispitanicima određeni su parametri oksidativnog statusa, aktivnost i fenotip enzima PON1, kao i raspodela LDL i HDL subfrakcija.

Analiza je pokazala izrazito povećanje udela malih, gustih LDL i HDL čestica kod pacijenata sa tipom 2 dijabetes melitusa ($P<0.001$), sarkoidozom ($P<0.001$), u terminalnom stadijumu hronične bubrežne insuficijencije ($P<0.05$), kao i nakon transplantacije bubrega ($P<0.01$). Parametri oksidativnog stresa bili su statistički značajno viši, a parametri antioksidativne zaštite i aktivnost PON1 značajno niži u ispitivanim grupama. Utvrdili smo značajnu korelaciju dijametara LDL i HDL čestica sa markerima oksidativnog stresa u navedenim kategorijama pacijenata, ali i u sredovečnoj populaciji pod rizikom za razvoj ateroskleroze. Sem toga, dokazana je povezanost fenotipa PON1 sa veličinom LDL i HDL čestica.

Naši rezultati ukazuju na značajnu interakciju oksidativnog stresa i dislipidemije znatno pre razvoja klinički značajne ateroskleroze, što može imati primenu pri definisanju adekvatnih preventivnih mera i sagedavanju potencijalnih terapijskih mogućnosti.

FUNKCIONALNA HRANA U DEČJEM UZRASTU: ANTIOKSIDANSI, VITAMINI, MINERALI I FITONUTRIJENTI

Andrija Šrek

Institut za zdravstvenu zaštitu dece i omladine Vojvodine, odeljenje za gastroenterologiju, hepatologiju i ishranu, Hajduk Veljkova 10, 21000 Novi Sad, Srbija.

Vitamini su složene supstance koje učestvuju u regulaciji telesnih funkcija. Koenzimi (partneri) su u mnogobrojnim enzimskim reakcijama. Karakteristično je da ne sadrže (i ne traže) energiju (kalorije). Dele se na dve glavne grupe – hidrosolubilne (vitamini B grupe, C) i liposolubilne (A, D, E, K). Minerali su materije koje učestvuju u regulaciji mnogih telesnih funkcija. Daju čvrstinu pojedinim delovima tela. Ne troše, niti daju energiju (kalorije). Ne mogu se uništiti toplotom. Antioksidanti usporavaju ili preveniraju oštećenje ćelije; mogu poboljšati funkciju imunog sistema i smanjiti rizik za infekcije i maligne bolesti. Od navedenih, najznačajniji u ishrani dece su karotenoidi – beta karoten, vitamin C, vitamin E, koji se nalaze se u obojenom voću, povrću i žitaricama. Fitonutrijenti su hranljive materije poreklom iz biljaka, koji “iniciraju” telesne procese u borbi protiv nekih bolesti ili smanjuju rizik za pojavu istih. Funkcionalnom se naziva ona hrana koja, pored svoje osnovne nutritivne vrednosti na pozitivan i zadovoljavajući način utiče na jednu ili više ciljanih funkcija tela smanjujući rizike razvoja pojedinih bolesti.

KRATKA USMENA SAOPŠTENJA

ISPITIVANJE PARAMETARA OKSIDATIVNOG STRESA, BCL₂/BAX ODNOSA I ENDONUKLEAZNE AKTIVNOSTI KOD OBOLELIH OD KOLOREKTALNOG KARCINOMA

Andrej Veljković¹, Gordana Kocić¹, Dušica Pavlović¹, Goran Stanojević², Branko Branković², Ivana Stojanović¹, Tatjana Cvetković¹, Dušan Sokolović¹, Tatjana Jevtović Stojmenov¹, Jelena Bašić¹, Milena Marinković¹ i Branka Đorđević¹

¹Medicinski fakultet, Katedra za biohemiju, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija;

²Klinički centar, Hirurška klinika, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija.

Karcinom debelog creva ima tendenciju da uskoro postane najčešći oblik karcinoma ljudske populacije. Reaktivne vrste kiseonika (RVK) mogu biti uključene u sve tri faze kancerogeneze: inicijaciju, promociju i progresiju tumora, a jedan od mogućih mehanizama njihovog dejstva jeste i uticaj na stepen apoptoze. Apoptoza, kao oblik "samoubistva" ćelija je značajna za regulaciju mnogih procesa u organizmu, a smanjenje nivoa apoptoze može dovesti do nastanka i progresije tumora.

Cilj ove studije bio je da se odredi oksidativni status izražen kroz nivo produkata lipidne peroksidacije (TBARS), nivo uznapredovalih oksidacionih produkata proteina (AOPP) i aktivnost enzima katalaze, kao i nivo apoptoze sagledan preko ekspresije Bcl₂ i Bax proteina i endonukleaznu aktivnost. Istraživanje je sprovedeno na 50 pacijenata obolelih od kolorektalnog karcinoma, 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 neporedno okružuje tumor. Koncentracija TBARS i AOPP, kao i aktivnost katalaze i DNAze I i DNAze II određivana je odgovarajućim spektrofotometrijskim metodama, dok je kvantitativna ekspresija Bcl₂ i Bax proteina određivana metodom indirektno imunofluorescence.

Rezultati studije pokazuju statistički značajan porast nivoa TBARS i AOPP, kao i ekspresije Bax, dok je aktivnost katalaze, DNAze I, DNAze II i ekspresije Bcl₂ proteina smanjena u tumorskom i tkivu koje okružuje tumor u odnosu na zdravo tkivo kolona ($p < 0.001$).

Ovi rezultati sugerišu da je kolorektalna kancerogeneza povezana sa povećanim nivoom oksidativnog stresa, kao i smanjenom stopom apoptoze u tumorskom tkivu. Ova činjenica može biti od koristi prilikom odabira odgovarajuće postoperativne terapije.

NOVI PRISTUP U TERAPIJI MELANOMA: MEZOPOROZNI NANOMATERIJALI KAO NOSIOCI CITOSTATIKA

Mirna Bulatović¹, Goran Kaluđerović², Christian Bensing², Marija Mojić¹, Miljana Momčilović¹, Igor Golić³, Aleksandra Korać³, Sanja Mijatović¹ i Danijela Maksimović-Ivanić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za Biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Centar za elektronsku mikroskopiju, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija;

³Martin Luter Univerzitet Halle-Wittenberg, Institut za hemiju, Kurt-Mothes-Straße 2, 06120 Halle, Nemačka.

Primena nanotehnologije u dijagnostici i lečenju kancera je aktuelna oblast istraživanja. Vezivanje antikancerskih lekova za nanočestice omogućava uništavanje tumora sa minimalnom opasnošću za zdrava tkiva i organe. Nanomaterijali na bazi silicijum dioksida su se pokazali kao odlični kandidati za nosače lekova u terapiji kancera s obzirom na izuzetnu biokompatibilnost. Cilj studije je ispitivanje antitumorskog potencijala organskog jedinjenja kalaja (IV) $[\text{SnPh}_3\{(\text{CH}_2)_6\text{OH}\}]$ pakovanog u nanočestice silike SBA-15p na B16 ćelijama mišjeg melanoma.

Vijabilnost ćelija je određivana CV i MTT testom. Analiza protočnom citofluorimetrijom je rađena na ćelijama koje su obojene propidijum jodidom, Annexin V-FITC/PI, apostatom, DAF-FM, DHR i CFSE bojom. Diferencijacija ćelija melanoma je ispitivana merenjem intracelularnog melanina i aktivnosti enzima uključenog u sintezu melanina-tirozinaze, mikroskopskom analizom ćelija obojenih hematoksilinom i elektronskom mikroskopijom. Ekspresija ključnih molekula odgovornih za diferencijaciju ćelija melanoma je određivana *Western blot* metodom. Antitumorski potencijal *in vivo* je ispitivan na singenom modelu mišjeg melanoma.

Jedinjenje kalaja u slobodnoj formi kao i u nano-pakovanju snažno suprimira rast B16 ćelija *in vitro* i *in vivo*. Dok je dominantan mehanizam delovanja Sn jedinjenja inhibicija proliferacije i sledstvena indukcija apoptoze, u nano formi u dozi koja je potpuno netoksična van nanomaterijala, pokreće proces diferencijacije preživelih ćelija u zrele melanocyte. Proces je praćen povećanjem koncentracije reaktivnih kiseoničnih i azotnih vrsta dok je na molekularnom nivou ovaj fenomen korelirao sa inhibicijom Akt i p70S6K.

U celini, rezultati ukazuju da pakovanje $[\text{SnPh}_3\{(\text{CH}_2)_6\text{OH}\}]$ u nanočestice silike SBA-15p višestruko unapređuje njegova antitumorska svojstva.

GLUTATION TRANSFERAZE KLASE OMEGA: MEHANIZAM DELOVANJA I ZNAČAJ U MEDICINI

Tatjana Đukić¹, Marija Matić¹, Tatjana Pekmezović², Marija Plješa-Ercegovac¹, Vesna Čorić¹, Tanja Radić¹, Sonja Šuvakov¹, Biljana Krivić³, Dejan Dragičević⁴, Ana Savić-Radojević¹ i Tatjana Simić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za epidemiologiju, Višegradska 26a, 11000 Beograd, Srbija;

³Klinika za urologiju, Klinički centar Srbije, Resavska 51, 11000 Beograd, Srbija;

⁴Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Resavska 51, 11000 Beograd, Srbija.

Nova klasa glutation transferaza (GST) nazvana omega (GSTO) poseduje čitav spektar specifičnih aktivnosti, uključujući tiol-transferaznu, dehidroksiaskorbat-reduktaznu i monometilarsonat reduktaznu aktivnost. Pored toga, novootkrivena tiol-transferazna aktivnost ove klase se, zbog prisustva funkcionalne grupe cisteina u aktivnom mestu, sve više povezuje sa procesom S-glutationilacije. Do sada je pored povezanosti GSTO polimorfizama sa rizikom za nastanak nekih solidnih tumora, Alchajmerove i Parkinsonove bolesti, amiotrofične lateralne skleroze, vaskularne demencije i hronične opstruktivne bolesti pluća, ispitivana i uloga koju ova klasa ima u rezistenciji na lekove i u biotransformaciji arsena.

U svetlu podataka o značajnoj ulozi koju GST klase omega mogu imati u regulaciji redoks ravnoteže u ćelijama, kao i zbog činjenice da je poremećen balans između redukovanog i oksidovanog stanja ključnih ćelijskih molekula jedno od fenotipskih obeležja karcinoma mokraćne bešike, moguće je pretpostaviti da GSTO1-1 i GSTO2-2 izoenzimi mogu imati ulogu u nastanku i progresiji ovih tumora.

U našem istraživanju ispitivan je polimorfizam GSTO1 (rs4925) i GSTO2 (rs156697) analizom proizvoda restrikcione digestije DNK fragmenata nastalih reakcijom lančanog umnožavanja, dok je ekspresija proteina GSTO1-1 određivana na nivou proteina metodom imunoblot i tioltransferazne aktivnosti enzima kod 105 bolesnika sa histopatološki potvrđenom dijagnozom karcinoma prelaznog epitela mokraćne bešike.

Naši rezultati pokazuju povećanu ekspresiju i tioltransferaznu aktivnost GSTO1-1 u tumorskom u odnosu na netumorsko tkivo, koja raste sa stepenom maligniteta tumora. Nosioci GSTO2 mutiranog alela su pod povećanim rizikom za nastanak tumora mokraćne bešike, a petogodišnje preživljavanje je značajno manje kod bolesnika nosioca GSTO1/GSTO2 mutiranih alela. Buduća istraživanja treba da pruže odgovor o vezi polimorfne ekspresije GSTO1 i GSTO2 i brojnih do danas poznatih funkcija ovih proteina.

ULOGA TESTOSTERONA U REGULACIJI NO SIGNALNOG PUTA U LEYDIG-OVIM ČELIJAMA

Marija Janjić, Nataša Stojkov, Silvana Andrić 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, zajedno sa svojim sintetičkim derivatima, koristi se u lečenju raznih poremećaja, ali se često i zloupotrebljava u cilju povećanja mišićne mase. U ovom radu ispitivani su efekti često korišćenog Testosteron Enantata (TE), na steroidogeni kapacitet, brojnost i angažovanje azot oksid (NO) signalnog puta u Leydig-ovim ćelijama testisa adultnih pacova.

Korišćena su dva *in vivo* eksperimentalna pristupa: (1) intramuskularni tretman sa TE (0.5 mg/50 μ l/100 g telesne mase, nedeljno) u toku dve ili deset nedelja, (2) intramuskularni tretman Androcurom (0.4 mg/100 g telesne mase, nedeljno u toku dve nedelje), antagonistom androgenih receptora.

Kao što je očekivano, tretman sa TE povećao je nivo sistemskog testosterona i smanjio nivo luteinizirajućeg hormona. Dve nedelje nakon tretmana u Leydig-ovim ćelijama detektovane su sledeće promene: porast produkcije NO, nastalog kao posledica povećane ekspresije pro-apoptotske inducibilne NO sintaze (NOS2), smanjenje nivoa intracelularnog cGMP, usled stimulacije ekspresije cGMP specifične fosfodiesteraze 5 (PDE5), inhibicija ekspresije anti-apoptotičke protein kinaze G (PRKG1), kao i smanjenje mitohondrijalnog membranskog potencijala ($\Delta\Psi_m$). Ove promene omogućile su prevladavanje pro-apoptotskih nad anti-apoptotskim signalima i intenziviranje apoptoze Leydig-ovih ćelija u testisima tretiranih pacova. *In vivo* sistemska blokada androgenih receptora poništila je navedene efekte TE. Sa druge strane, u toku produženog TE-tretmana (10 nedelja), došlo je do smanjenja intenzivirane apoptoze Leydig-ovih ćelija i vraćanja nivoa ekspresije NOS2 i produkcije NO na kontrolne vrednosti. Međutim, testisi tretiranih životinja sadržali su vidno manji broj Leydig-ovih ćelija i imali smanjen steroidogeni kapacitet.

Dobijeni rezultati ukazuju da testosteron modulacijom NO-cGMP signalnog puta predstavlja potencijalni autokrini regulator testikularne steroidogeneze i da u uslovima visokog nivoa sistemskog testosterona doprinosi uspostavljanju „androgene homeostaze“ preko regulacije brojnosti populacije Leydig-ovih ćelija.

Rad je finansiran sa projekata: OI173057 i APV02397.

REDOKS MEHANIZMI METABOLIČKE KONTROLE U HIBERNACIJI

Milica Vučetić¹, Vesna Otašević¹, Ana Stančić¹, Aleksandra Janković¹, Aleksandra Korać², Milica Markelić², Ksenija Veličković², Igor Golić², Biljana Buzadžić¹ i Bato Korać^{1,2}

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

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

Faza duboke hibernacije se, pored ostalog, karakteriše smanjenom perfuzijom organa i nepravilnim disanjem uz duge periode apnee. Ovo jasno ukazuje da nivo dostupnog kiseonika u organima i tkivima hibernatora jako varira, pa čak dostiže i hipoksične vrijednosti u uslovima duboke hibernacije, što nesumnjivo ima posledice po ukupni energetske metabolizam hibernatora.

Cilj ove studije je bio da se ispita uloga ključnog senzora dostupnosti kiseonika, time i redoks balansa – HIF-1 α (*engl.* hypoxia-induced factor-1 α) u regulaciji metaboličkog remodelovanja tkiva ključnih za održanje ukupne energetske homeostaze (mrko masno tkivo, mišići i jetra), tokom aklimacije na nisku temperaturu (1, 3, 7, 12 i 21 dan na 4 ± 1 °C, faza aktivnog metabolizma) i tokom hibernacije (faza suprimiranog metabolizma).

Rezultati ukazuju da prokrvljenost, tj. dostupnost kiseonika, vjerovatno putem indukcije HIF-1 α , ima veliki uticaj na reprogramiranje metabolizma mrkog masnog tkiva i mišića, kako tokom aklimacije na nisku temperaturu, tako i u fazi duboke hibernacije. Sa druge strane, čini se da jetra hibernatora zadržava svoju autonomnost, posebno tokom hibernacije, ne mijenjajući u mnogome svoj metabolički šablon. Osim HIF-1 α , rezultati su pokazali da i AMPK (*engl.* AMP-activated protein kinase) – glavni senzor energetske deficita u ćeliji, ima važnu ulogu u mrkom masnom tkivu i mišićima, kao regulator energetske homeostaze.

U ovoj studiji je još jednom jasno potvrđeno da su metabolički putevi i molekularni mehanizmi prisutni širom filogenije, ti koji su odgovorni za “hibernirajući fenotip” i da postoji ogroman potencijal za korišćenje ovih strategija hibernacije u poboljšanju fizioloških i liječenju patofizioloških stanja kod čoveka.

**PROIZVODNJA PEPTIDA SA ANTIOKSIDATIVNOM AKTIVNOŠĆU
HIDROLIZOM PROTEINA SEMENA GRAŠKA POMOĆU SOJEVA RODA
*Lactobacillus***

Nemanja Stanisavljević¹, Goran Vukotić², Đorđe Fira², Živko Jovanović¹, Svetlana Radović², Ivana Strahinić¹, Ferenc Pastor³, Desanka Sužnjević⁴ i Jelena Samardžić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, V. Stepe 444a, Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Studentski trg 12, Beograd, Srbija;

⁴Institut za opštu i fizičku hemiju, Studentski trg 12-16, Beograd, Srbija.

Izučavanje antioksidativnih svojstava peptida dobijenih bakterijskom hidrolizom biljnih proteina postaje sve atraktivnije. Antioksidativna aktivnost hidrolizata zavisi od peptidnog sastava na koji direktno utiče supstratna specifičnost bakterijskih proteinaza koje se koriste u hidrolizi, kao i dužina inkubacije. Rod *Lactobacillus* poseduje različite tipove proteinaza koje su prisutne na površini bakterijskih ćelija.

Da bi se ispitala mogućnost primene bakterijskih proteinaza u proizvodnji antioksidativnih peptida, testirana je aktivnost devet različitih proteolitički aktivnih sojeva iz roda *Lactobacillus*. Kao supstrat korišćena je liofilizovana rastvorljiva frakcija proteina iz semena graška (*Pisum sativum*), kultivar "MRAZ". Korišćena semena za dobijanje hidrolizata su prethodno oslobođena semenjače i osušena. Preliminarni eksperimenti su podrazumevali razvijanje medijuma za rast laktobacila u kome su kao jedini izvor proteina korišćena semena graška, koji je kasnije upotrebljen za dobijanje hidrolizata na većoj skali.

Pokazano je da svih devet sojeva laktobacila mogu hidrolizovati hidrosolubilnu frakciju proteina semena, ali sa različitom efikasnošću. Kao najpotentniji izdvojio se humani vaginalni izolat *Lactobacillus rhamnosus* BGT10, koji je korišćen u daljem radu. U eksperimentima je utvrđena pozitivna korelacija između dužine hidrolize i antioksidativne aktivnosti peptidne frakcije molekulskih masa manjih od 10 kDa. Ovako dobijeni peptidni ekstrakt razdvojen je jonoizmenjivačkom hromatografijom i utvrđene su antioksidativne aktivnosti dobijenih frakcija polarografskom metodom. Tokom 24 h tretmana količina malih peptida je rasla do 34 % od početne količine proteina semena, a antioksidativna aktivnost se povećala u svim peptidnim frakcijama, te najveću aktivnost poseduje frakcija bogata fenolnim grupama.

Opisani pristup ima nekoliko značajnih prednosti u odnosu na metode prisutne u literaturi. Isplativost upotrebe bakterijskih enzima za hidrolizu i njihova dostupnost prevazilaze animalne, koji su danas u upotrebi u proizvodnji hrane. Takođe, na ovaj način se mogu dobiti proteinski ekstrakti sa novim antioksidativnim svojstvima, bez upotrebe animalnih proizvoda, pogodni za upotrebu u vegetarijanskoj, košer i halal ishrani.

OKSIDATIVNI STRES U OSNOVI ANTITUMORSKOG DEJSTVA NOVOSINTETISANIH SUPSTANCI ORGANSKE PRIRODE

Marija Dulović¹, Sonja Misirlić Denčić¹, Aleksandar Savić², Maja Jovanović¹, Tibor J. Sabo² i Ivanka Marković¹

¹*Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija;*

²*Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Studentski trg, 11000 Beograd, Srbija.*

U skladu sa zastupljenošću malignih bolesti u morbiditetu i mortalitetu svetske i naše populacije, istraživanja na polju otkrivanja novih, efikasnijih lekova ne jenjavaju. Cilj našeg rada je bio ispitivanje citotoksičnog delovanja novosintetisanih organskih jedinjenja (**1a-1e**) cikloheksil propilendiamin-*N,N'*-diacetat-nog tipa.

Citotoksična aktivnost ovih jedinjenja je ispitivana testovima vijabiliteta (MTT) i upotrebom protočne citofluorimetrije na četiri komercijalne tumorske ćelijske linije: mišji (C6) i humani (U251) gliom, mišji fibrosarkom (L929) i humani neuroblastom (SHSY-5Y) kao i na kulturi primarnih astrocita pacova. Novosintetisana organska jedinjenja su pokazala dobro antitumorsko dejstvo koje je bilo najizraženije na U251 ćelijskoj liniji humanog glioma. Najefikasnijim se pokazao *n*-butil estar (**1e**) što je dovelo do zaključka da je za ispoljavanje antitumorskog dejstva neophodna esterifikacija ishodne kiseline (**1a**) kao i da dužina bočnog alkil lanca doprinosi antitumorskom dejstvu. Najefikasniji, *n*-butil estar je pokazao i dobru selektivnost u svom antitumorskom delovanju jer je citotoksični efekat bio značajno bolji na gliomskim ćelijama u poređenju sa astrocitima pacova a IC₅₀ (24 h) vrednost na U251 ćelijskoj liniji je bila niža nego za cisplatin. *n*-Butil estar je uzrokovao povećanje produkcije slobodnih radikala i posledični oksidativni stres dovodeći do akumulacije ćelija humanog glioma u G₀/G₁ fazi ćelijskog ciklusa, koja je bila praćena aktivacijom kaspaza i fragmentacijom jedarne DNK.

Ovi rezultati su ukazali da pokretanje apoptoze verovatno ima značajnu ulogu u antigliomskom delovanju novosintetisanih jedinjenja.

ANTIOKSIDATIVNA I CITOPROTEKTIVNA AKTIVNOST DIARILHEPTANOIDA IZ KORE *Alnus glutinosa*

Jelena Dinić¹, Ana Podolski-Renić¹, Sonja Stojković¹, Miroslav Novaković², Aleksandra Mrkonja³, Aleksandar Nešić³, Nikola Tanić¹ i Milica Pešić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Studentski trg 12-16, 11058 Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Studentski trg 12-16, 11058 Beograd, Srbija.

Diariheptanoidi su biljni sekundarni metaboliti iz grupe polifenola od kojih mnogi poseduju višestruka biološka svojstva. Obzirom da toksično dejstvo mnogih štetnih agenasa obuhvata stvaranje slobodnih radikala, antioksidativna i citoprotektivna aktivnost diarilheptanoida platifilozida (**1**) i njegovog složenijeg analoga 5(*S*)-1,7-di-(4-hidroksifenil)-5-O- β -D-[6-(*E-p*-kumaroilglukopiranozil)] heptan-3-ona (**14**) izolovanih iz kore crne jove (*Alnus glutinosa*) ispitana je na četiri humane ćelijske linije: senzitivnim i rezistentnim ćelijama nesitnoćelijskog karcinoma pluća (NCI-H460 i NCI-H460/R), melanomima (518A2) i normalnim keratinocitima (HaCaT).

Radi upoređivanja aktivnosti u studiju je uključen i već detaljno ispitan diarilheptanoid sa antioksidativnim svojstvima, kurkumin. Dejstvo diarilheptanoida na ćelijsku proliferaciju, u kombinaciji sa citotoksičnim agensima doksorubicinom i cisplatinom, ispitano je MTT testom. Proizvodnja kiseoničnog anjona detektovana je na fluorescentnom mikroskopu bojenjem dihidroetidijumom (DHE), dok je stuktura mitohondrija vizualizovana akumulacijom fluorescentnog rodamina (Rho123) na unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani.

Ispitani diarilheptanoidi su pokazali protektivno dejstvo na ćelije u kombinovanom tretmanu sa doksorubicinom i cisplatinom višestruko povećavajući njihove IC₅₀ vrednosti, pri čemu su supstance **1** i **14** pokazale bolji efekat u odnosu na kurkumin. Šestočasovni pretretman diarilheptanoidima smanjio je proizvodnju kiseoničnog anjona indukovanu dejstvom cisplatina, a najveći antioksidativni efekat primećen je kod diarilheptanoida **14**. Pretretman diarilheptanoidima značajno je smanjio i fragmentaciju mitohondrija izazvanu doksorubicinom, pri čemu je najveće protektivno dejstvo na mitohondrijalnu strukturu pokazalo ponovo jedinjenje **14**.

Dobijeni rezultati ukazuju da kod humanih ćelija neutralizacija slobodnih radikala predstavlja značajan mehanizam delovanja ispitanih diarilheptanoida tako da ova jedinjenja mogu doprineti zaštiti normalnih ćelija osetljivih na formiranje slobodnih radikala u toku hemioterapije. Međutim, njihova primena uz hemioterapiju može umanjiti anti-tumorsku efikasnost iste, te su neophodna dalja istraživanja u ovom pravcu.

NIVO OKSIDATIVNOG STRESA I ANTIOKSIDATIVNE ZAŠTITE U LIPOPROTEINSKIM ČESTICAMA KOD BUBREŽNIH BOLESNIKA

Milica Miljković¹, Jelena Kotur-Stevuljević¹, Aleksandra Stefanović¹, Sanja Simić-Ogrizović², Jelena Vekić¹, Aleksandra Zeljković¹ i Zorana Jelić-Ivanović²

¹Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za Medicinsku biohemiju, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija;

²Klinički centar Srbije, Klinika za nefrologiju, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija.

Hipertrigliceridemija, povećanje lipoproteina male gustine (LDL) i smanjen nivo lipoproteina velike gustine (HDL), predstavljaju glavni izvor povećanog rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti kod bubrežnih bolesnika. Promenjeni lipidni profil kod ovih pacijenata zajedno sa povećanim oksidativnim stresom, značajno doprinose bržem razvoju ateroskleroze. Ova studija je imala za cilj da ispita da li postoji razlika u nivou oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u lipoproteinima veoma male gustine (VLDL) i HDL kod zdravih, dijaliznih i predijaliznih pacijenata.

Nakon ultracentrifugiranja i izdvajanja lipoproteina kod 10 dijaliznih, predijaliznih i zdravih ispitanika određen je nivo totalnog antioksidativnog statusa (TAS), vrednosti ukupnih sulfhidrilnih grupa (SH grupa) i malondialdehida (MDA) u lipoproteinskim česticama i u plazmi.

Tokom određivanja parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u lipoproteinskim frakcijama, uočeno je da u HDL lipoproteinskoj frakciji dominiraju zaštitne komponente, dok je u VLDL lipoproteinskoj frakciji primećen povećan nivo oksidativnog stresa. Dobijeni rezultati pokazuju značajno više vrednosti SH grupa u HDL lipoproteinskoj frakciji i u plazmi kod zdravih u odnosu na bubrežne bolesnike ($p < 0.05$), dok razlike na nivou VLDL nije bilo. U HDL lipoproteinskoj frakciji dijaliznih pacijenata dobijene su značajno više vrednosti za TAS i SH grupe u odnosu na predijalizne pacijente [27,5 (23,91-30,91) $\mu\text{mol/g}$ HDL proteina vs. 18,54 (0,045-23,30) $\mu\text{mol/g}$ HDL proteina]; SH grupe- [7,5 (5,45-10,44) $\mu\text{mol/g}$ HDL proteina vs. 7,33 (1,8-9,5) $\mu\text{mol/g}$ HDL proteina]. Vrednosti MDA u plazmi, u VLDL i HDL lipoproteinskoj frakciji se nisu statistički značajno razlikovale kod pacijenata i zdravih ($p > 0.05$).

Pored smanjene koncentracije HDL, bubrežni bolesnici se karakterišu i promenjenim antioksidativnim statusom na nivou HDL, pri čemu su zbog smanjene zaštite posebnom riziku za razvoj kardiovaskularnih bolesti izloženi predijalizni pacijenti.

KOMPARATIVNA ANALIZA PATOGENETSKOG ZNAČAJA OKSIDATIVNOG I NITROZATIVNOG STRESA U RAZLIČITIM KLINIČKIM FENOTIPOVIMA NEUROIFLAMACIJE: MOGUĆE DIJAGNOSTIČKE I TERAPIJSKE PERSPEKTIVE?

Srđan Ljubisavljević^{1,2}, Ivana Stojanović³, Slobodan Vojinović², Svetlana Stojanović³,
Tatjana Cvetković³, Vanja Đurić², Gordana Kocić³ i Dušica Pavlović³

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Institut za Patofiziologiju, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija;

²Univerzitet u Nišu, Klinički centar Niš, Klinika za Neurologiju, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija;

³Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Institut za Biohemiju, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija.

Iako je opšte prihvaćeno da oksidativni i nitrozativni stres predstavljaju vodeće patogenetske mehanizme u nastanku i razvoju neuroinflamacije, malo je publikacija koje daju precizne podatke o njihovom mestu i značaju u pojedinim patogenetskim fazama neuroinflamacije.

Nivo nitrata i nitrita (NO_2+NO_3), produkata oksidativne modifikacije proteina (AOPP), malondialdehida (MDA), nivo tiolnih grupa (SH) i superoksid dizmutaze (SOD), određivani su u plazmi i cerebrospinalnoj tečnosti koji su dobijeni od 57 pacijenata sa klinički izolovanim sindromom CNS (KIS), i 50 pacijenata sa relapsno remitentnom multiplom sklerozom (RRMS). Dobijene vrednosti korelirane su sa stepenom neurološkog deficita (merenim EDSS), volumenom Gadolinijum vezujućih lezija u CNS-u, kao i dužinom bolesti.

Koncentracije svih ispitivanih biomarkera bile su značajno promenjene u KIS i RRMS pacijenata u odnosu na kontrolnu grupu ($p<0.05$). NO_2+NO_3 , AOPP i MDA bili su značajno povišeni, dok su koncentracije SH i SOD bile značajno niže ($p<0.05$). Sve promene bile su naglašenije u RRMS u odnosu na KIS pacijente ($p<0.05$). U obe grupe, pacijenti sa blažom kliničkom slikom, blažim radiološkim nalazom i kraćim trajanjem bolesti pokazali su manji intenzitet nitrozativnog (NO_2+NO_3) i oksidativnog stresa (AOPP, MDA) uz povećanje antioksidativnog potencijala (SH, SOD). Dobijene su selektivno značajne korelacije promene koncentracije NO_2+NO_3 , AOPP, MDA, SH i SOD i težine kliničkog i radiološkog nalaza, i dužine trajanja bolesti ($p<0.01$).

Određivanje parametara nitrozativnog i oksidativnog stresa u ispitivanim kliničkim fenotipovima neuroinflamacije moglo bi biti značajno za planiranje antioksidativne terapije kao adjuvantne terapije standardizovanoj imunomodulatornoj terapiji u ovih pacijenata.

EFEKTI FLAVONOIDA IZOLOVANIH IZ PROPOLISA NA REDOKS STATUS ČELIJSKIH LINIJA HUMANOG KARCINOMA KOLONA I DOJKE

Jovana Žižić¹, Ana Obradović¹, Nenad Vuković², Slobodan Sukdolak² i Snežana Marković¹

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

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

Propolis je viskozna, smolasta mešavina oko 300 jedinjenja koja pčele prikupljaju iz pupoljaka različitih biljaka. Zbog svojih raznovrsnih bioloških i farmakoloških dejstava, propolis ima široku primenu u medicini, kozmetici i prehrambenoj industriji. Flavonoidi predstavljaju grupu jedinjenja koja su najzastupljenija u propolisu kao bioaktivni molekuli sa višestukim farmakološkim dejstvima.

Cilj ovog istraživanja je bio da se proceni uticaj flavonoida izolovanih iz propolisa na redoks status u humanim čelijskim linijama kancera debelog creva HCT-116 i dojke MDA-MB-231.

HPLC-DAD metod je korišćen za određivanje hemijskog sastava uzoraka propolisa. Jedanaest flavonoida iz etanolnih ekstrakta propolisa je izolovano i identifikovano ¹H NMR i ¹³C NMR spektroskopijom. Da bismo ispitali antioksidativne osobine flavonoida čelijske linije HCT-116 i MDA-MB-231 su tretirane različitim koncentracijama ispitivanih supstanci (u opsegu 1-100 μM). Koristili smo NBT, Griess i GSH testove na obe čelijske linije za određivanje nivoa superoksid anjon radikala, nitrita i glutationa.

Naši rezultati su pokazali da su flavonoidi luteolin, miricetin i galangin imali izrazit antioksidativni potencijal, koji se ogledao u snižavanju nivoa superoksid anjon radikala i nitrita, kao i povećanju nivoa glutationa u obe čelijske linije.

Možemo zaključiti da flavonoidi izolovani iz propolisa imaju izražen antioksidativni potencijal i mogu se smatrati bezbednim i zdravim dodacima u ishrani.

ANTINEKROTSKI EFEKAT MELATONINA U JETRI DIJABETIČNIH PACOVA

Anja Petrović, Vesna Martinović, Desanka Bogojević, Sofija Jovanović, Svetlana Ivanović-Matić, Goran Poznanović i Ilijana Grigorov

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

Dijabetes predstavlja metabolički poremećaj koji je okarakterisan hiperglikemijom i sa njom udruženim oksidativnim stresom koji dovodi do oštećenja i disfunkcije mnogih organa. Patološke promene morfologije i funkcije jetre tokom razvoja dijabetesa glavni su uzroci različitih bolesti jetre. Kod dijabetičnih pacijenata dolazi do promena u veličini jetre kao rezultat izmenjenog broja ćelija usled njihovog rasta ili ćelijske smrti. U osnovi ćelijske smrti putem nekroze nalaze se DNK oštećenja. Obzirom da tokom dijabetesa dolazi do smanjenja nivoa melatonina, u ovom radu ispitivan je antioksidativni uticaj dnevnog unosa melatonina na stepen DNK oštećenja i prisustvo nekrotskih promena u ćelijama jetre pacova kod kojih je dijabetes izazvan jednokratnim injeciranjem streptozotocina u dozi od 65 mg/kg.

Eksperiment su činile kontrolna grupa pacova soja Wistar, grupa koja je primala melatonin (0.2 mg/kg), grupa sa dijabetesom i grupa dijabetičnih pacova tretiranih melatoninom. Tretman melatoninom počeo je tri dana pre injeciranja streptozotocina i trajao je četiri nedelje. Stepem oksidativnog stresa praćen je određivanjem lipidnog statusa i merenjem koncentracije vodonik peroksida (H_2O_2) u cirkulaciji i jetri. Oštećenje jetre je utvrđivano histološki i preko serumskog nivoa alanin aminotransferaze, aspartat aminotransferaze i alkalne fosfataze. Oštećenja DNK ispitivana su Komet analizom. Prisustvo nekrotskih promena praćeno je histološki i imunoblot analizom profila sećenja DNK reparacionog enzima, PARP-1 (*engl.* Poly(ADP-ribose)polymerase-1) i subćelijske lokalizacije i ekstraćelijskog prisustva signalnog proteina nekroze, HMGB1 (*engl.* High Mobility Group Box 1).

Dijabetični pacovi tretirani melatoninom ispoljavali su značajno niži nivo oksidativnog stresa i oštećenja jetre u odnosu na dijabetične. Melatonin je očuvao strukturu jetre dijabetičnih pacova i značajno smanjio nivo hidropsne degeneracije i broj nekrotičnih ćelija što korelira sa smanjenjem DNK oštećenja za 77%, redukovanom pojavom nekrotskih fragmenata PARP-1 (55kDa i 62 kDa) i zadržavanjem HMGB1 proteina u jedru.

Zaključeno je da melatonin svojim antioksidativnim delovanjem štiti jetru od oštećenja uzrokovanih dijabetičnim stanjem i da bi mogao biti od koristi kao vid terapije kod obolelih od dijabetesa.

LOSARTAN POBOLJŠAVA LIPIDNI STATUS I UBLAŽAVA OKSIDATIVNI STRES U EKSPERIMENTALNOJ ADRIAMICINSKOJ NEFROPATIJI

Danijela Karanović, Jelica Grujić Milanović, Zoran Miloradović, Milan Ivanov, Una-Jovana Vajić, Đurđica Jovović i Nevena Mihailović Stanojević

Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja, Dr Subotića 4, 11129 Beograd, Srbija.

Pacovi tretirani adriamicinom (ADR) razvijaju fokalnosegmentnu glomerulosklerozu (FSGS) koja predstavlja eksperimentalni model hroničnog progresivnog oboljenja bubrega kod ljudi. Prekomerna produkcija reaktivnih vrsta kiseonika (RVK), kao i lipidna peroksidacija značajno doprinose nastanku i progresiji FSGS. U hipertenziji, kao i u bubrežnoj insuficijenciji, nivo angiotenzina II (Ang II) je povišen. Ang II preko Ang II tip 1 (AT-1) receptora, pored hemodinamskih efekata, stimuliše fibrogenezu i inflamaciju dovodeći do daljeg pogoršanja strukture i funkcije bubrega u FSGS. Cilj ove studije je bio da ispitamo uticaj losartana (selektivnog blokatora AT-1 receptora) na lipidni status i oksidativni stres u modelu FSGS udružene sa hipertenzijom.

Ženke pacova sa urođenom hipertenzijom su bile podeljene u tri eksperimentalne grupe. K - kontrolna grupa bez tretmana, ADR - grupa koja je primila bolus adriamicina (2 mg/kg t.m.) dva puta u razmaku od tri nedelje i ADR+LOS - grupa koja je posle adriamicinskog tretmana primala losartan (10 mg/kg t.m.) u trajanju od 6 nedelja. Uspostavljena FSGS potvrđena je preko odnosa proteina i kreatinina u urinu (Up/cr, marker oštećenja bubrežne funkcije). Određivan je lipidni status, a nivo lipidne peroksidacije plazme praćen je merenjem reaktivnih vrsta tiobarbiturine kiseline (TBARS).

Up/cr je bio povećan u ADR grupi u odnosu na kontrolu ($p < 0,001$). Tretman losartanom je značajno smanjio ovu vrednost ($p < 0,01$), ali je ona ostala značajno povećana u odnosu na kontrolnu. Tretman adriamicinom doveo je do značajnog porasta ukupnog holesterola i triglicerida ($p < 0,001$), kao i TBARS ($p < 0,05$) u odnosu na kontrolu, bez promene nivoa HDL holesterola u plazmi eksperimentalnih životinja. U grupi ADR+LOS utvrđen je snižen nivo ukupnog holesterola i triglicerida ($p < 0,01$), kao i TBARS (za 49,43%, $p = 0,085$) u poređenju sa vrednostima u ADR grupi.

Blokada AT-1 receptora poboljšala je lipidni status i smanjila nivo lipidne peroksidacije plazme pacova sa FSGS, što ukazuje da angiotenzinom II AT-1 indukovano povećanje produkcije RVK doprinosi daljoj progresiji FSGS.

POSTER PREZENTACIJE

P 1

MITOHONDRIJE I GLATKI ENDOPLAZMIN RETIKULUM TOKOM SAZREVANJA HUMANE JAJNE ČELIJE

Aleksandar Krstić^{1,2}, Ksenija Veličković¹, Milica Markelić¹, Igor Golić¹, Ana Stančić³, Aleksandra Janković³, Milica Vučetić³, Biljana Buzadžić³, Aleksandar Ljubić^{2,4}, Bato Korac^{1,3}, Vesna Otašević³ i Aleksandra Korac¹

¹Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, Beograd, Srbija;

²Specijalna ginekološka bolnica „Jevremova“, Gospodar Jovanova 51, Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, Beograd, Srbija;

⁴Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, dr Subotića 8, Beograd, Srbija.

Tokom sazrevanja jajne ćelije sisara, mitohondrije prolaze dinamične promene u broju, distribuciji, strukturi, ali i u prostornom remodeliranju u odnosu na druge ćelijske kompartimente kao što su citoskelet, kompleks Goldžija, endoplazmin retikulum. Cilj ovog rada je bio da se ispita (ko)lokalizacija mitohondrija i glatkog endoplazminog retikuluma na različitim stupnjevima zrelosti humane jajne ćelije.

U tu svrhu, nezrele humane jajne ćelije na stupnju germinalne vezikule (GV, *eng.* germinal vesicle) i stupnju metafaze I (MI), kao i zrele jajne ćelije na stupnju metafaze II (MII) mejotičke deobe, studirane su na nivou konfokalne mikroskopije obeležavanjem markerima specifičnim za ove organele (Mito-tracker/ER-tracker) i na nivou ultrastrukture transmisijom elektronskom mikroskopijom. U odnosu na GV ćelije, u MI i MII ćelijama zapažena je redistribucija mitohondrija i glatkog endoplazminog retikuluma, kao i progresivan porast stepena njihove kolokalizacije. Transmisiona elektronska mikroskopija potvrdila je blisku poziciju mitohondrija i glatkog endoplazminog retikuluma i pokazala njihovo strukturalno udruživanje u klastere: specifično proširivanje pojedinih cisterni glatkog endoplazminog retikuluma praćeno je bliskom pozicijom 4-5 mitohondrija koje su drugačije ultrastrukture od ostatka populacije.

Zapaženo strukturalno udruživanje mitohondrija i glatkog endoplazminog retikuluma moglo bi biti posledica izmene jona kalcijuma među ćelijskim kompartmentima u cilju specifičnih citoskeletnih i organelarnih redistribucija u citoplazmi jajne ćelije tokom samog procesa sazrevanja, specifične fokalne produkcije ATP ili sinteze specifičnih molekula. Svaka promena ovih kompartmenata i njihovog udruživanja tokom sazrevanja jajnih ćelija može imati posledice po uspešnost *in vitro* oplodnje.

P 2

**PRODUKCIJA REAKTIVNIH VRSTA KISEONIKA I AZOT OKSIDA U
MONONUKLEARNIM ČELIJAMA PERIFERNE KRVI KOD
VATERPOLISTKINJA**

Aleksandra Arsić¹, Vesna Ilić¹, Jasmina Martačić-Debeljak¹, Sandra Milanović² i Vesna Vučić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja, Tadeuša Košćuška 1, 11000 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet pedagoških nauka, Milana Mijalkovića 14, 35000 Jagodina, Srbija.

Mononuklearne ćelije periferne krvi su heterogena grupa ćelija čija se relativna raspodela i funkcionalni odgovor menjaju tokom i neposredno nakon fizičke aktivnosti.

U ovoj studiji određivan je respiratorni prasadak, tj. produkcija reaktivnih vrsta kiseonika (*engl.* reactive oxygen species, ROS), produkcija azot oksida (NO) i metabolička aktivnost/održivost mononuklearnih ćelija periferne krvi, kod žena koje treniraju vaterpolo (n=11) i ispitanica slične životne dobi koje nisu fizički aktivne (n=12). Oslobođanje ROS određivano je NBT testom, produkcija NO akumulacijom nitrata u ćelijskoj kulturi, dok je aktivnost mononuklearnih ćelija određivana MTT testom.

Mononuklearne ćelije periferne krvi nisu pokazale značajnu razliku u spontanog i PMA produkciji reaktivnih vrsta kiseonika, između ispitivanih grupa. Osim toga, nije bilo razlika u spontanog i LPS produkciji nitrata između vaterpolistkinja i kontrolne grupe. Međutim, održivost mononuklearnih ćelija periferne krvi bila je značajno veća kod vaterpolistkinja u odnosu na kontrolnu grupu, kako nakon 3 časa, tako i nakon 24 časa inkubacije.

Rezultati naše studije su pokazali da dugogodišnje bavljenje sportom dovodi do promena u aktivnosti mononuklearnih ćelija periferne krvi kod sportistkinja u odnosu na kontrolnu grupu. Istovremeno, produkcija reaktivnih vrsta kiseonika i azot oksida u mononuklearnim ćelijama se ne menja kao odgovor organizma na fizičku aktivnost.

P 3

REDOKS SPECIFIČNOSTI VISCERALNOG I POTKOŽNOG MASNOG TKIVA – MEHANIZMI RAZVOJA GOJAZNOSTI I METABOLIČKOG SINDROMA

Aleksandra Janković¹, Aleksandra Korać², Biljana Srdić³, Biljana Buzadžić¹, Vesna Otašević¹, Ana Stančić, Milica Vučetić¹, Milica Markelić², Ksenija Veličković², Igor Golić² i Bato Korać^{1,2}

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Biloški fakultet, Centar za elektronsku mikroskopiju, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Novom Sadu, Medicinski fakultet, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad, Srbija.

Metaboličke specifičnosti dva tipa masnog tkiva, potkožnog i visceralnog, nalaze se u osnovi njihove različite uloge koju imaju u održanju sveukupne metaboličke homeostaze. Iako je poznato da su metabolički putevi u adipocitima redoks-regulisani, redoks-specifičnosti ovih tkiva kod ljudi još uvek nisu poznate. U cilju razumevanja redoks-zavisnih molekulskih mehanizama razvoja gojaznosti i metaboličkog sindroma kod ljudi, u ovom radu su ispitivane tkivno-specifične redoks karakteristike i njihove promene u odnosu na povećanu telesnu masu (gojaznost) i metabolički rizik.

50 premenopauzalnih ispitanica je na osnovu vrednosti indeksa telesne mase raspoređeno u dve grupe: normalno uhranjene i gojazne. Obe grupe su dodatno, na osnovu rizičnih metaboličkih parametara (HOMA-IR indeksa, kao i nivoa triglicerida, total-, LDL- i HDL-holesterola) podeljene na metabolički zdrave i metabolički gojazne. U biopsijama visceralnog i potkožnog masnog tkiva određivan je nivo komponenti antioksidativne odbrane (AO) kao i proteinski nivo NADPH oksidaze.

Poređenjem vrednosti ispitivanih AO komponentata depoa normalno uhranjenih, metabolički zdravih ispitanica (kontrola), visceralni depo se odlikuje višim bazalnim nivoom glutaciona (GSH) i aktivnostima GSH-zavisnih enzima. U poređenju sa normalno uhranjenim, metabolički zdravim ispitanicama, u oba depoa gojaznih (metabolički zdravih i gojaznih) ispitanica, je zabeležen niži nivo GSH. Veći nivo NADPH oksidaze, kao i niži proteinski nivo mangan superoksid dismutaze, detektovan je samo u visceralnom depou gojaznih ispitanica. Pored toga, samo u visceralnom depou metabolički gojaznih ispitanica detektovan je i niži nivo aktivnosti ukupne superoksid dismutase i proteinski nivo katalaze.

Veći nivo GSH-zavisnog dela AO odbrane u visceralnom u poređenju sa potkožnim tkivom, odražava veću metaboličku aktivnost, pre svega veći obrt triacilglicerola u ovom depou. Analogno tome, niži nivo GSH u gojaznosti udružen sa prooksidativnim redoks profilom može inicirati metaboličku disfunkciju visceralnih depoa masnog tkiva, koja se nalazi u osnovi sistemskih metaboličkih poremećaja/komplikacija.

P 4

**UTICAJ INTENZIVNE FIZIČKE AKTIVNOSTI NA GENSKU
EKSPRESIJU Cu/Zn SOD I Mn SOD U LIMFOCITIMA FUDBALERA**

Ana Ninić, Vesna Spasojević-Kalimanovska, Nataša Bogavac-Stanojević, Jelena Kotur-Stevuljević, Miron Sopić, Aleksandra Stefanović, Ivana Baralić, Brižita Đorđević, Zorana Jelić-Ivanović i Slavica Spasić

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija.

Umerena, svakodnevna fizička aktivnost je od velikog značaja za zdravlje ljudi i efikasna je u prevenciji i terapiji kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa i gojaznosti. Pošto tokom svakog tipa vežbanja dolazi do stvaranja slobodnih radikala, postoji sve veće interesovanje da se ispita veza između fizičke aktivnosti i ekspresije gena antioksidativne zaštite (AOZ) u cilju da se shvate osnovni mehanizmi preko kojih vežbanje doprinosi zdravlju i dugom životnom veku.

Studija je sprovedena sa ciljem da utvrdi potencijalne efekte intenzivne i dugotrajne fizičke aktivnosti na gensku ekspresiju i aktivnost izoenzima superoksid-dismutaze (SOD).

Istraživanje je obuhvatilo 12 fudbalera uzrasta od 16 do 18 godina koji su bili igrači fudbalskog kluba „Teleoptik“, Beograd. Krv je uzorkovana u jutarnjim satima pre i nakon 12 nedelja svakodnevnih treninga i takmičarskih utakmica. Određivani su ukupna plazmatska i aktivnost izoenzima SOD, koncentracija ukupnih sulfhidrilnih (SH) grupa, tiobarbituratne kiseline reagujućih supstanci (TBKRS), produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP) i brzina stvaranja superoksidnog anjon radikala (O_2^-). Za kvantifikaciju relativne genske ekspresije (RQ) izoenzima SOD u limfocitima korišćena je Real time PCR metoda.

Fudbaleri su nakon 12 nedelja ispitivanog perioda bili u oksidativnom stresu (OS). Aktivnosti ukupne SOD bile su značajno niže ($p=0,012$) iako se aktivnosti izoenzima nisu značajno promenile, a nivoi O_2^- značajno viši ($p=0,011$) posle treninga. RQ vrednosti Cu/Zn SOD se nisu statistički značajno promenile ($p=0,106$), dok su vrednosti Mn SOD bile značajno veće ($p=0,031$) nakon 12 nedelja. RQ vrednosti Cu/Zn SOD su bile parametar koji nezavisno utiče na ukupnu aktivnost SOD ($p=0,025$) a koncentracija TBKRS je imala ulogu prediktivnog faktora za RQ vrednosti Mn SOD ($p=0,017$).

Intenzivni i dugotrajni treninzi nakon 12 nedelja su pokazali povoljne efekte na gensku ekspresiju Mn SOD. Utvrđena je interakcija parametara OS/AOZ iz plazme i RQ vrednosti Cu/Zn SOD i Mn SOD iz limfocita.

P 5

CITOTOKSIČNO I ANTIOKSIDATIVNO DEJSTVO LIŠAJEVA *Cladonia foliacea* I *Hypogimnia physodes* NA HCT-116 ČELIJSKU LINIJU HUMANOG KANCERA KOLONA

Ana Obradović¹, Milan Stanković¹, Jovana Žižić¹, Dragana Šeklić¹, Tatjana Mitrović², Slaviša Stamenković², Vladimir Cvetković² i Snežana Marković¹

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

²Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Višegradska 33, 18000 Niš, Srbija.

Cilj rada je bio ispitati efekat acetonskog i etil-acetatnog ekstrakta lišajeva *Cladonia foliacea* i *Hypogimnia physodes* na HCT-116 čelijsku liniju humanog kancera kolona, kao i koncentraciju ukupnih fenolnih jedinjenja, flavonoida i antioksidativnu aktivnost.

Citotoksični efekat je određivan MTT testom, ćelije su tretirane ekstraktom u rasponu od 1 do 500 µg/ml, tokom 24 i 72 sata. Ukupna fenolna jedinjenja u ekstraktima ispitivanih vrsta lišajeva određivana su spektrofotometrijskom metodom. Antioksidativna aktivnost ispitivanih vrsta određena je spektrofotometrijskim merenjem stepena neutralizacije DPPH radikala.

Ispitivani uzorak na testiranoj čelijskoj liniji humanog kancera kolona HCT-116, pokazuje značajnu citotoksičnost u odnosu na netretirane ćelije 24 i 72 sata nakon tretmana, u svim koncentracijama. Prema IC₅₀ vrednostima ispitivani uzorci pokazuju slabu citotoksičnost 24 sata nakon tretmana, a nakon 72 sata citotoksičnost se povećava i kod acetonskog ekstrakta lišaja *C. foliacea* ima vrednost 42.48 µg/ml, a etil-acetatnog ekstrakta je 52.35 µg/ml, dok je kod acetonskog ekstrakta lišaja *H. physodes* 34.76 µg/ml, a kod etil-acetatnog ekstrakta 49.87 µg/ml. Količina ukupnih fenolnih jedinjenja vrste *C. foliacea* ima vrednost 97.42 mg/g u acetonskom, odnosno 77.29 mg/g u etil-acetatnom ekstraktu, dok za vrstu *H. physodes* u acetonskom ekstraktu iznosi 171.01 mg/g, a u etil-acetatnom 177.55 mg/g. U ekstraktima ispitivanih vrsta lišajeva određivana je i koncentracija flavonoida čija je vrednost za vrstu *C. foliacea* 48.04 mg/g u acetonskom i 19.80 mg/g u etil-acetatnom ekstraktu, dok za vrstu *H. physodes* u acetonskom ekstraktu ima vrednost 36.59 mg/g, odnosno 30.15 mg/g. DPPH IC₅₀ vrednosti za vrstu *C. foliacea* iznose 1901.23 i 2365.44 µg/ml, dok sa vrstu *H. physodes* su 24.71 i 38.26 µg/ml za acetonski i etil-actatni ekstrakt respektivno.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da acetonski i etil-acetatni ekstrakti ovih lišajeva pokazuju vrlo dobar citotoksični efekat na HCT-116 ćelijama. Prikazane vrednosti ukazuju da se vrsta *H. physodes* odlikuje veoma visokim koncentracijama fenolnih jedinjenja sa visokom antioksidativnom aktivnošću.

P 6

**ANTIOKSIDATIVNI EFEKAT ORIGINALNO SINTETISANIH
KOMPLEKSA HIDANTOINA NA HCT-116 ČELIJSKU LINIJU
HUMANOG KANCERA KOLONA**

Ana Obradović¹, Jovana Žižić¹, Nemanja Trišović², Bojan Božić², Gordana Ušćumlić²,
Biljana Božić³ i Snežana Marković¹

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

²Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet, Karnegijeva 4, 11000 Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija.

Hidantoin je opšte prihvaćen naziv za imidazolidin-2,4-dion. Ovaj molekul se retko javlja u prirodi, mada ulazi u sastav nekih prirodnih proizvoda. Derivati hidantoina se najviše koriste u medicini kao antikonvulzanti u lečenju epilepsije i srčane aritmije, a u skorije vreme i tumora.

Cilj ove studije je ispitivanje antioksidativnog uticaja novosintetisanih hidantoina na HCT-116 čelijsku liniju humanog kancera kolona.

Ćelije su 24 sata nakon zasejavanja tretirane sa 0.01, 0.1, 1, 10 i 100 μM rastvorima hidantoina i derivata. Nakon 24 sata aktivnost hidantoina i derivata je određivana merenjem koncentracije superoksid anjon radikala, nitrita i ukupnog glutaciona spektrofotometrijski.

Rezultati pokazuju da sva jedinjenja izazivaju smanjenje koncentracije superoksid anjon radikala i povećanje koncentracije nitrita na HCT-116 čelijskoj liniji humanog kancera kolona. Hidantoin i svi njegovi derivati dovode do povećanja ukupnog glutaciona.

Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da se ispitivani hidantoini ponašaju kao antioksidansi, jer izazivaju smanjenje produkcije slobodnih radikala i povećanje ukupnog glutaciona, kao i produkciju nitrita. Svi ovi zaključci mogu da posluže kao osnova za osmišljavanje novih snažnih antioksidativnih agenasa.

P 7

ULOGA ANTIOKSIDATIVNIH ENZIMA U MEHANIZMIMA RADIOSENZITIVNOSTI MOZGA

Ana Todorović, Snežana Pejić, Vesna Stojiljković, Ljubica Gavrilović, Nataša Popović,
Ivan Pavlović i Snežana B. Pajović

Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“, p.fah 522, 11001 Beograd, Srbija.

Primena radioterapije u pedijatrijskoj onkologiji povećala je stopu preživljavanja dece sa primarnim i metastatskim tumorima, ali je kvalitet njihovih života značajno smanjen zbog kognitivnih deficita koji se javljaju kao posledica ozračivanja. Štetni efekti jonizujućeg zračenja posledica su oksidativnog stresa u ozračenom tkivu. Zbog toga antioksidativni enzimi (AOE) predstavljaju važne parametre zaštite ćelije od jonizujućeg zračenja i mogu modulirati njen radiobiološki odgovor.

Naša ranija ispitivanja su pokazala da kranijalno ozračivanje γ -zracima u dozi od 2 Gy ili 3 Gy indukuje sniženje aktivnosti Mn superoksid dismutaze (MnSOD) u hipokampusu i korteksu pacova u prvom satu, dok je u 24. satu od ozračivanja zabeležen relativni porast aktivnosti ovog enzima. Kako su ovi rezultati ukazali na značajnu ulogu MnSOD u složenim mehanizmima radiorezistencije, proširili smo istraživanje ispitivanjem uticaja doze od 5Gy na aktivnost AOE u istim regionima mozga. Rezultati su pokazali da u prvom satu od ozračivanja u oba ispitivana regiona mozga dolazi do sniženja MnSOD aktivnosti. U 24-om satu ovo inicijalno sniženje biva delimično nadoknađeno samo u kortikalnom regionu mozga, što još jednom potvrđuje manju inducibilnost MnSOD u hipokampusu. Osim toga, u uzorcima iz našeg ranijeg (2Gy i 3Gy), kao i sadašnjeg (5Gy) eksperimenta smo odredili nivo MnSOD proteina (Western blot), kako bi odgovorili na pitanje da li su uočene promene aktivnosti MnSOD posledica promena u ekspresiji ovog enzima. Takođe su za sve tri doze analizirane aktivnosti CuZnSOD i CAT, ali njihove promene nisu pokazale regionalnu zavisnost.

Na osnovu rezultata ovog istraživanja može se zaključiti da CuZnSOD i CAT imaju važnu ulogu u AO zaštiti ćelije, ali ne predstavljaju parametre značajne za različitu regionalnu radiosenzitivnost mozga pacova. Sa druge strane, pozitivna korelacija regionalne radiorezistencije i inducibilnosti radioprotektivne MnSOD navode na zaključak da ovaj enzim predstavlja značajnu komponentu složenih molekulskih mehanizama odgovornih za veću radiosenzitivnost hipokampusu u odnosu na korteks. Takođe, postradijacione promene MnSOD proteina ukazuju da, zavisno od doze, zračenje moduliše ekspresiju i aktivnost MnSOD različitim transkripcionim i posttranslacionim mehanizmima.

P 8

DIAZEPAM IZAZIVA OKSIDATIVNI STRES I AUTOFAGIJU U ĆELIJAMA MIŠJEG MELANOMA

Anđelka Isaković, Maja Jovanović, Ivana Radulović i Aleksandra Isaković

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

Visoka incidenca i letalitet malignog melanoma, maligni potencijal i brzina metastaziranja, česti relapsi, a neefikasnost adjuvantne terapije predstavljaju razloge zbog kojih se ulažu veliki naponi u pronalaženje kao i u ispitivanje molekularnih mehanizama dejstva potencijalnih citotoksičnih jedinjenja. Cilj ovog rada je ispitivanje potencijalnog citotoksičnog efekta diazepama na B16 ćelije mišjeg melanoma i mehanizama odgovornih za njegovo antitumorsko delovanje.

Vijabilitet B16 ćelija mišjeg melanoma je određen merenjem aktivnosti kisele fosfataze nakon tretmana diazepamom u prisustvu i odsustvu antioksidansa N-acetil cisteina (NAC). Analiza potencijalnog mehanizma delovanja ispitivanog leka izvedena je primenom odgovarajućih fluorohroma i analizom na protočnom citofluorimetru. Bojenje propidijum jodidom, dihidrorodaminom, dihidroetidijumom i akridin-oranžom sprovedeno je u cilju analize ćelijskog ciklusa, prisustva slobodnih kiseoničnih radikala i superoksidnih anjona kao i autofagije. Imunoblot analizom određivan je nivo ekspresije autofagozomu pridruženog proteina LC3-II i p62, selektivne mete razgradnje u procesu autofagije.

Dobijeni rezultati su pokazali da diazepam ispoljava citotoksično dejstvo na B16 ćelije tokom 24h tretmana ($IC_{50}=389,42 \mu M$), indukuje porast produkcije slobodnih kiseoničnih radikala i superoksidnog anjona i dovodi do zastoja u G2/M fazi ćelijskog ciklusa. Primena antioksidansa NAC (2 mM) je smanjila citotoksično dejstvo diazepama. Protočnom citometrijom je pokazano prisustvo kiselih vezikula, dok je aktivacija autofagije potvrđena povećanom ekspresijom LC3-II proteina i sniženom ekspresijom p62 proteina.

Iz svega navedenog se može zaključiti da ispitivani lek iz grupe benzodiazepina pokazuje antiproliferativno i citotoksično dejstvo na B16 ćelijama mišjeg melanoma pri čemu povećana produkcija slobodnih kiseoničnih radikala ima značajan udeo u ovim efektima.

P 9

ULOGA OKSIDATIVNOG I NITROZATIVNOG STRESA U RAZVOJU NEALKOHOLNE MASNE BOLESTI JETRE KOD MIŠEVA NA METIONIN-HOLIN DEFICIJENTNOJ DIJETI

Bojan Jorgačević¹, Dušan Mladenović¹, Milica Ninković², Vera Prokić², Milena N. Stanković¹, Vuk Aleksić¹, Ivana Cerović³, Rada Ješić Vukićević³, Danijela Vučević¹, Marija Stanković¹ i Tatjana Radosavljević¹

¹Univerzitet u Beogradu, Medicinski Fakultet, Institut za Patološku fiziologiju "Ljubodrag Buba Mihailović", Dr Subotića 9, 11000 Beograd, Srbija;

²Institut za Medicinska Istraživanja, Vojno Medicinska Akademija, Beograd, Crnotravska 17, Beograd, Srbija;

³Klinički Centar Srbije, Institut za Digestivne bolesti, Koste Todorovica 6, 11000 Beograd, Srbija.

Nealkoholna masna bolest jetre (NAFLD) je hepatična manifestacija metaboličkog sindroma koja se manifestuje širokim spektrom patoloških promena, od steatoze do nealkoholnog steatohepatitisa (NASH), fibroze, ciroze i karcinoma jetre.

Cilj ovog istraživanja je da se ispita uloga oksidativnog i nitrozativnog stresa u razvoju NAFLD kod miševa na metionin-holin deficijentnoj (MHD) dijeti. Mužjaci, miševa C57BL/6 podeljeni su na sledeće grupe: kontrolna grupa na standardnoj ishrani i grupa na MHD dijeti u toku 2, 4 ili 6 nedelja (MHD2, MHD4, MHD6). Nakon tretmana uzeti su uzorci krvi (za određivanje alanin i aspartat aminotransferaze (AST i ALT) i proteina akutne faze) kao i uzorci jetre za patohistologiju, određivanje parametara oksidativnog i nitrozativnog stresa (malondialdehid (MDA), nivo nitrita i nitrata (NO_x), aktivnost ukupne superoksid dismutaze kao i njenih izoformi, aktivnost katalaze (CAT), kao i nivo glutationa (GSH)).

Nivo MDA u jetri bio je povišen u svim MHD grupama u poređenju sa kontrolom ($p < 0.01$), dok je nivo nitrita i nitrata (NO_x) pokazivao progresivni porast u svim tretiranim grupama. Aktivnost superoksid dismutaze i njenih izoformi bio je značajno niži u svim MHD grupama ($p < 0.01$). Aktivnost CAT bila značajno niža u svim grupama tretiranim MHD dijetom u svim intervalima ($p < 0.01$), dok je najniža aktivnost uočena je u MHD4 grupi. Sadržaj GSH u jetri bio je niži u MHD4 ($p < 0.05$) i MHD6 grupi ($p < 0.01$) u poređenju sa kontrolom. Koncentracija feritina i C-reaktivnog proteina u serumu bile su značajno povišene jedino u MHD6 grupi. aše istraživanje pokazuje da MHD dijeta dovodi do lipidne peroksidacije, smanjenja antioksidativnog kapaciteta jetre, kao i progresivnog porasta nitrozativnog stresa u jetri. Najizraženije smanjenje antioksidativnog kapaciteta jetre je u četvrtoj nedelji, kada bi primena antioksidanasa bila najpogodnija u cilju sprečavanja razvoja NASH.

P 10

POKAZATELJI OKSIDATIVNOG STRESA KOD BOLESNIKA SA HRONIČNOM ALKOHOLNOM BOLESTI JETRE

Bojana Kisić¹, Dijana Mirić¹, Ilija Dragojević¹, Julijana Rašić² i Aleksandra Ilić³

¹*Institut za biohemiju, Medicinski fakultet Priština, Anri Didan bb, 38220 Kosovska Mitrovica, Srbija;*

²*Institut za farmakologiju, Medicinski fakultet Priština, Anri Didan bb, 38220 Kosovska Mitrovica, Srbija;*

³*Katedra za preventivnu medicinu (Medicinska statistika i informatika), Anri Didan bb, 38220 Kosovska Mitrovica, Srbija.*

Hronična alkoholna bolest jetre nastaje usled konzumiranja veće količine alkohola tokom dužeg vremenskog perioda. Toksično delovanje etanola, produkcija reaktivnih radikala kiseonika i posledični oksidativni stres utiču na razvoj alkoholom indukovane bolesti jetre (ALD). Cilj studije bilo je ispitivanje pokazatelja oksidativnog stresa: lipidnih hidroperoksida (LOOH), malondialdehida (MDA) i proizvoda oksidacije proteina (AOPP), kao i aktivnosti enzima superoksid dismutaze (SOD), glutation peroksidaze (GPx) i arilesteraze (ARE) u serumu pacijenata sa ALD.

Markeri oksidativnog stresa i aktivnost enzima GPx, SOD i ARE određivani su u serumu bolesnika sa hroničnom alkoholnom bolesti jetre (N=30) i u serumu kontrolne grupe (N=20). Koncentracija LOOH određivana je FOX-2 metodom. Merenje aktivnosti SOD, GPx i ARE u serumu vršeno je spektrofotometrijski.

Izmerena je značajno viša koncentracija lipidnih hidroperoksida i malondialdehida, kao i proizvoda oksidacije proteina, u serumu bolesnika u odnosu na kontrolnu grupu ($p < 0.001$). Aktivnosti enzima SOD, GPx i ARE bile su značajno niže u serumu bolesnika sa ALD u poređenju sa kontrolnom grupom ($p < 0.001$). U serumu pacijenata utvrđena je značajna negativna povezanost između aktivnosti ARE (U/L) i koncentracije LOOH ($\mu\text{mol/L}$) ($r = -0.362$, $p < 0.05$). Fibrozni skor pacijenata sa alkoholnom bolesti jetre pokazivao je značajnu negativnu povezanost sa arilesteraznom aktivnošću ($r = -0.267$, $p < 0.05$) i pozitivnu zavisnost sa nivoom lipidnih hidroperoksida ($r = 0.562$, $p < 0.001$).

Smanjenje antioksidativne odbrane u sprezi sa pojačanom peroksidacijom lipida i oksidacijom proteina može pojačati pro-fibrogeni odgovor tkiva jetre tokom hronične alkoholne bolesti. Naši rezultati ukazuju da smanjenje aktivnosti arilesteraze može imati ulogu u patogenezi alkoholom indukovane bolesti jetre, a određivanje njene aktivnosti u serumu može doprineti ispitivanju funkcije jetre i biti pogodan biomarker za procenu prisustva/težine hroničnog oboljenja jetre.

P 11

UPOREDNA ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ETANOLNIH EKSTRAKATA CRNIH I BELIH RIBIZLI

Bojana Miladinović¹, Katarina Šavikin², Milica Kostić¹, Dragana Pavlović¹, Milica Milutinović¹ Dušica Stojanović¹ i Dušanka Kitić¹

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija;

²Institut za proučavanje lekovitog bilja „dr Josif Pančić“, Tadeuša Koščuška 1, 11000 Beograd, Srbija.

Intenzivna istraživanja poslednjih godina ukazuju da upotreba bobičastog voća, sa visokim sadržajem polifenolnih jedinjenja, u svakodnevnoj ishrani može da ublaži nastanak i razvoj mnogih hroničnih masovnih nezaraznih bolesti. Plodovi crne ribizle, za razliku od belih, obiluju antocijanima. Antocijani su jedinjenja koja ispoljavaju jaku antioksidativnu, antiinflamatornu, antimikrobnu, neuroprotektivnu i hemoprotektivnu aktivnost. Cilj istraživanja je odrediti i uporediti antioksidativni potencijal etanolnih ekstrakata pripremljenih od sokova plodova crne i bele ribizle plantažno gajenih na teritoriji Obrenovca.

Sveže dobijeni sokovi su ekstrahovani koncentrovanim 96% i 80% etanolom u odnosu 1:10, postupkom mehaničkog mešanja tokom 24h, a zatim totalnom evaporacijom rastvarača. Antioksidativni potencijal dobijenih ekstrakata ocenjen je pomoću dva *in vitro* test sistema kojima je određena sposobnost neutralizacije slobodnih radikala u 2,2-difenilpikrilhidrazil (DPPH) sistemu, kao i inhibicija peroksidacije u lipidnom β -karoten/linolna kiselina modelu.

Svi ekstrakti su ispoljili efikasnu antioksidativnu aktivnost, a rezultati su predstavljeni kao IC₅₀, koncentracija ekstrakta koja ostvaruje 50% inhibicije slobodnih radikala. Etanolni ekstrakti crne ribizle su pokazali jači, statistički značajan efekat u oba ispitivana sistema u odnosu na ekstrakte belih, što je i očekivano obzirom na odsustvo antocijana u uzorcima belih ribizli (ANOVA, Duncan test, $p < 0.05$).

Etanolni ekstrakti ispitivanih ribizli, a pre svega crnih, pored sokova mogu naći značajno mesto u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Od nedavno, istraživanja su usmerena i na ispitivanje listova i pupoljaka ovih biljnih vrsta, jer su bogat izvor prirodnih antioksidanasa.

P 12

ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST ISPARLJIVIH KOMPONENTI *Hyalinella punctata* ODREĐENA POLAROGRAFIJOM SA JEDNOSMERNOM STRUJOM KORISTEĆI ANODNI TALAS VODONIK-PEROKSIDA

Boris Pejin¹, Đura Nakarada², Miroslav Novaković³, Stanislava Ž. Gorjanović⁴, Ferenc T. Pastor⁴, Miloš Mojović², Aleksandar Savić¹, Vele Tešević⁵, Aleksandar Hegediš¹, Ivo Karaman⁶, Mladen Horvatić⁶, Ksenija Radotić¹ i Desanka Ž. Sužnjević⁴

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za multidisciplinarna istraživanja - IMSI, Odsek za nauke o živim sistemima, Kneza Višeslava 1, 11030 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Studentski trg 12-16, 11158 Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju - IHTM, Centar za hemiju, Njegoševa 12, 11000 Beograd, Srbija;

⁴Univerzitet u Beogradu, Institut za opštu i fizičku hemiju, Studentski trg 12-16, 11158 Beograd, Srbija;

⁵Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Katedra za organsku hemiju, Studentski trg 16, 11158 Beograd, Srbija;

⁶Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, Trg Dositeja Obradovića 2, 21000 Novi Sad, Srbija.

Isparljive komponente slatkovodne vrste *Hyalinella punctata* (Hancock, 1850) (Phylactolaemata, Bryozoa) izolovane su (destilacija vodenom parom, aparatura po Klevendžeru), identifikovane (GC i GC-MS) i *in vitro* ispitane na antioksidativnu aktivnost polarografskom metodom sa jednosmernom strujom (DC). Dva uzorka *H. punctata* (1 i 2) sakupljena su na istom lokalitetu (Dunav, Beograd, Srbija) u novembru 2011. i maju 2012. godine, respektivno. Glavne komponente uzorka **1** [2-etil-1-heksanol (34.89 %), n-dodekanol (20.18 %) i heksanal (7.98 %)] i uzorka **2** [2-etil-1-heksanol (27.91 %), 7-tridekanol (22.69 %), 1-heksadekanol (11.04 %) i heksadekanol (6.99 %)] bile su relativno slične. Međutim, broj identifikovanih komponenti u uzorku **2** bio je veći od uzorka **1** (23 i 17, respektivno). Primenjena metoda zasnovana je na DC polarografskom ponašanju vodonik-peroksida u baznoj sredini na kapajućoj živinoj elektrodi (DME) u prisustvu uzoraka **1** i **2**. Pored radne DME, elektrolitička ćelija sadržala je referentnu zasićenu kalomelsku elektrodu i pomoćnu Pt elektrodu. Polarografske krive struja-potencijal (i-E) dobijene su pomoću polarografskog uređaja PAR (Princeton Applied Research), model 174A, spojenog sa X-Y pisačem (Houston Instruments, Omnigraphic 2000). Analizom odgovarajućih polarograma utvrđeno je da je uzorak **1** pokazao mnogo veću antioksidativnu aktivnost od uzorka **2**. Prema našem saznanju, ovo su prvi rezultati DC polarografskog određivanja antioksidativne aktivnosti isparljivih komponenti, kako slatkovodnih, tako i marinskih predstavnika filuma Bryozoa. Isti ukazuju da jednostavna organska jedinjenja prirodnog porekla (alkoholi, aldehidi i ketoni) mogu da inspirišu razvoj novih antioksidanata sa potencijalnom primenom u farmaciji i/ili industriji hrane.

Rad je finansiran sa projekata: 172053, 173040, 172015, III 43010, III 43007, III 41005 i III 45012.

P 13

OKSIDATIVNI MEHANIZMI TOKSIČNOSTI PRI AKUTNOM I SUBAKUTNOM TROVANJU MIŠEVA KADMIJUMOM

Danijela Đukić-Ćosić¹, Zorica Bulat¹, Milica Ninković² i Vesna Matović¹

¹Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za toksikologiju „Akademik Danilo Soldatović“, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija;

²Institut za medicinska istraživanja, Vojnomedicinska akademija, Crnotravska 17, 11000 Beograd, Srbija.

Iako se za kadmijum (Cd) zna tek nepuna dva veka, danas je ovaj metal jedan od najznačajnijih toksičnih supstanci profesionalne i ekotoksikologije. O njegovoj toksičnosti svedoči i činjenica da se prema ATSDR (*engl. Agency for Toxic Substances and Disease Registry*) već više godina nalazi na sedmom mestu na listi najznačajnijih otrova, dok rezultati novijih epidemioloških studija ukazuju da izloženost čak i niskim dozama kadmijuma predstavlja rizik po zdravlje ljudi.

U cilju rasvetljavanja mehanizama toksičnosti ovog metala u radu je praćen uticaj akutnog i subakutnog trovanja kadmijumom na oksidativni stres i ravnotežu bioelemenata u jetri i bubregu miša. Pri akutnom trovanju je primenjena pojedinačna oralna doza od 20 mg Cd/kg t.m., a pri subakutnom trovanju životinje su tretirane oralno, svakodnevno tokom 14 dana dozom od 10 mg Cd/kg t.m. Praćeni su sledeći parametri: malondialdehid (MDA), produkcija azot(II)-oksida (NO), aktivnost enzima superoksid dizmutaze (ukupne SOD i CuZnSOD), redukovani glutation (GSH), ukupne sulfhidrilne grupe (SH), kao i nivoi bioelemenata cinka, bakra i gvožđa.

Dobijeni rezultati pokazuju da su za hepatotoksično i nefrotoksično dejstvo kadmijuma odgovorni oksidativni stres i poremećena ravnoteža bioelemenata, s tim da su ovi efekti različiti po organima u zavisnosti od dužine izlaganja toksičnom agensu. Oksidativni i nitrozativni stres su mehanizmi oštećenja jetre pri akutnoj intoksikaciji, dok u oštećenjima bubrega slobodni radikali posreduju nakon produženog izlaganja kadmijumu. Kao metal koji ne učestvuje u oksido-redukcionim reakcijama, Cd oksidativni stres izaziva indirektno, inhibicijom enzimskih (SOD, CuZnSOD) i neenzimskih komponenata (GSH i ukupne SH grupe) antioksidativne odbrane, kao i posredstvom Fentonovih metala, Fe i Cu. Osim relacija između metala promenljive valence i lipidne peroksidacije, dobijena je i veza između aktivnosti CuZnSOD i sadržaja Cu i Zn. Ovi rezultati ukazuju da su interakcije Cd sa bioelementima značajne za objašnjenje oksidativnih mehanizama hepatotoksičnosti i nefrotoksičnosti Cd i daju potvrdu međusobne zavisnosti različitih mehanizama toksičnosti kadmijuma.

P 14

**POREĐENJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI LISTOVA VRSTE
Arbutus unedo IZ CRNE GORE I GRČKE**

Dragana R. Pavlović¹, Dušanka Kitić¹, Suzana Branković¹, Milica Kostić¹, Milica Milutinović¹, Bojana Miladinović¹, Branislava Lakušić² i Nada Kovačević²

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Bul. Dr Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija.

Arbutus unedo L. (Ericaceae) je zimzelen grm rasprostranjen na teritoriji Mediterana i severozapadne Evrope. U narodnoj medicini se list i koren upotrebljavaju kao diuretik, urinarni antiseptik, hipotenziv, hipoglikemik, adstringento i antiinflamatorno sredstvo i u tretmanu kožnih bolesti. Kako oksidativni stres značajno doprinosi razvoju i pogoršanju brojnih oboljenja, ispitivana je antioksidativna aktivnost listova vrste *Arbutus unedo*.

U cilju poređenja antioksidativne aktivnosti etanolnih ekstrakata listova vrste *A. unedo* sakupljenih istog leta na teritoriji Crne Gore i Grčke korišćen je test sistem za utvrđivanje sposobnosti neutralizacije slobodnih radikala (uz stabilan DPPH radikal) i dva test sistema za ispitivanje sposobnosti inhibicije lipidne peroksidacije (LP): određivanje intenziteta inhibicije LP u lipozomima i određivanje sposobnosti inhibicije obezbojavanja β -karotena u sistemu β -karoten/linolna kiselina.

Utvrđena je značajna inhibicija lipidne peroksidacije već u najnižoj primenjenoj koncentraciji ekstrakata (6,25 $\mu\text{g/ml}$), kao i slično ponašanje uzoraka u dva test sistema koja se baziraju na praćenju ovog procesa. U svim test sistemima je etanolni ekstrakt listova vrste *A. unedo* iz Grčke ispoljio bolje efekte (IC₅₀ vrednost u DPPH testu: 5,38 $\mu\text{g/ml}$ prema 7,14 $\mu\text{g/ml}$ ekstrakta listova iz Crne Gore).

Antioksidativna aktivnost oba ekstrakta je veoma izražena. Stanište biljne vrste značajno utiče na antioksidativni potencijal.

P 15

**CITOTOKSIČNI I PROOKSIDATIVNI EFEKTI EKSTRAKATA
LIŠAJEVA (*Pseudoevernia furfuracea* I *Platismatia glauca*) NA ČELIJSKIM
LINIJAMA HUMANOG KOLON KANCERA (HCT-116 I SW-480)**

Dragana S. Šeklić¹, Tatjana Mitrović², Slaviša Stamenković², Vladimir Cvetković²,
Jelena Radenković¹, Milena G. Čurčić¹, Marko N. Živanović¹, Danijela Cvetković¹,
Snežana D. Marković¹

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

²Institut za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu, Višegradska 33, 18000 Niš, Srbija.

Lišajevi kao dragoceni biljni resurs koriste se u industriji lekova, hrane, boja, parfema, začina, i dr., a njihova upotreba u medicini zasniva se na činjenici da oni sadrže jedinstvene i različite biološki aktivne supstance. *P. furfuracea* (drvena mahovina) i *P. glauca* su vrste koje rastu na kori drveta, a poznati su kao lišajevi osetljivi na zagađenje vazduha. U radu je ispitivano citotoksično dejstvo i oksidativno-antioksidativni status metanolnog acetatnog i etil-acetonskog ekstrakta lišajeva *Pseudoevernia furfuracea* i *Platismatia glauca* u pojedinačnim tretmanima na HCT-116 i SW-480 čelijskim linijama humanog karcinoma kolona.

U cilju ispitivanja citotoksičnosti korišćen je MTT test, a citotoksično dejstvo izraženo je preko IC₅₀ vrednosti. Za determinaciju oksidativno-antioksidativnog statusa praćena je koncentracija superoksid anjon radikala (O₂⁻), nitrita (NO₂) i redukovanog glutationa (GSH).

Najbolji citotoksični efekat pokazao je tretman *P. furfuracea* (etil-acetatni ekstrakt) i IC₅₀ iznosi 62.42 µg/ml za 24 h i 21.17 µg/ml za 72 h na HCT116 ćelijama, dok metanolni ekstrakt istog lišaja pokazuje IC₅₀=86.63 µg/ml za 24 h i 51.28 µg/ml za 72 h na SW480 ćelijama. Koncentracija O₂⁻ statistički je značajno povećana u svim tretmanima nakon 24 i 72 h na obe linije, što korelira sa citotoksičnim efektima, dok je koncentracija NO₂ snižena nakon 24 h kod HCT-116, a nakon 72 h kod SW480 ćelija, kao i koncentracija GSH koja značajno opada posle 72 h u ćelijama obe linije.

Na osnovu dobijenih rezultata utvrđeno je da ekstrakti *P. furfuracea*, pokazuju značajan citotoksični efekat u poređenju sa ostalim tretmanima. Svi tretmani izazivaju značajnu promenu u redoks statusu na ispitivanim čelijskim linijama.

P 16

**PROOKSIDATIVNI I ANTIMIGRATORNI EFEKTI EKSTRAKATA
MEDICINSKI ZNAČAJNIH GLJIVA U TRETMANU ČELIJSKIH LINIJA
HUMANOG KOLON KANCERA**

Dragana S. Šeklić, Milan S. Stanković, Marina D. Topuzović, Milena G. Čurčić, Marko N. Živanović, Danijela Cvetković i Snežana D. Marković

Institut za biologiju i ekologiju, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija.

Za pet metanolnih ekstrakata gljiva (*Phellinus linteus*, *Cordyceps sinensis*, *Lentinus edodes*, *Coprinus comatus*, *Ganoderma lucidum*), poznatih antikancerogenih svojstava, a komercijalno dostupnih u Srbiji, ispitivani su sledeći parametri: koncentracija fenola i flavonoida, kao i antioksidativno-proooksidativni efekti, citotoksični i antimigratorni potencijal na ćelijskim linijama humanog kolon kancera (HCT-116 i SW-480). Za determinaciju koncentracije fenola, flavonoida i sposobnosti sakupljanja slobodnih radikala u ekstraktima, korišćena je spektrofotometrijska metoda. Citotoksična aktivnost je merena MTT testom. Proooksidaciono/antioksidacioni status ćelija u prisustvu ekstrakata gljiva je praćen preko koncentracija superoksid anjon radikala (O_2^-), nitrita (NO_2) i redukovanog glutatona (GSH). Antimigratorni efekti praćeni su Transwell metodom.

Rezultati pokazuju da najviši nivo fenola i flavonoida sadrži ekstrakt *P. linteus*, a najmanji *L. edodes*. U pogledu kapaciteta za sakupljanje slobodnih radikala značajno se isptiče *P. linteus* (5.32 $\mu\text{g/ml}$) u odnosu na sve druge testirane ekstrakte. Ispitivani ekstrakti nisu pokazali značajnu citotoksičnu aktivnost, dok su indukovali značajne promene u proooksidativno/antioksidativnom statusu ovih ćelija. Svi testirani ekstrakti pokazali su značajan inhibitorni efekat na migratorni potencijal ispitivanih ćelija koji korelira sa povećanom produkcijom O_2^- u obe linije. Svi rezultati dobijeni na tretiranim ćelijama su upoređivani sa kontrolom (netretirane ćelije) i pozitivnom kontrolom (cisplatinom).

Rezultati prezentovani u ovom radu pokazuju da ekstrakti gljiva indukuju oksidacioni stres, nedovoljan da bi bio praćen citotoksičnošću, ali dovoljan da izazove značajan antimigratorni efekat u ispitivanim ćelijskim linijama kolon kancera.

P 17

UTICAJ FINASTERIDA NA OKSIDATIVNI STRES U MOZGU U HEPATIČNOJ ENCEFALOPATIJI IZAZVANOJ TIOACETAMIDOM KOD PACOVA

Dušan Mladenović¹, Dragan Hrnčić², Nataša Petronijević³, Milica Velimirović³,
Tihomir Stojković³, Gordana Jevtić³, Tatjana Radosavljević¹, Aleksandra Rašić-
Marković² i Olivera Stanjlović²

¹Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za patološku fiziologiju „Ljubodrag Buba Mihailović“, Dr Subotića 9, 11000 Beograd, Srbija;

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

³Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za kliničku i medicinsku biohemiju, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija.

Važnu ulogu u patogenezi hepatične encefalopatije (HE) imaju poremećaji neurotransmisije posredovani neurosteroidima i oksidativni stres. Finasterid, inhibitor 5 α -reduktaze i sinteze neurosteroida, potencijalno može menjati tok HE.

Cilj rada je bio da se ispita uticaj finasterida na oksidativni stres u mozgu u HE izazvanoj tioacetamidom kod pacova.

Mušjaci *Wistar* pacova su podeljeni u sledeće grupe: 1. kontrolna grupa; 2. TAA grupa tretirana tioacetamidom (900 mg/kg); 3. FIN grupa tretirana finasteridom (150 mg/kg) i 4. FIN+TAA grupa tretirana finasteridom (150 mg/kg) i tioacetamidom (900 mg/kg). Dnevne doze TAA (300 mg/kg) i FIN (50 mg/kg) su administrirane tokom tri uzastopna dana intraperitonealno, a u FIN+TAA grupi FIN (50 mg/kg) je primenjen 2 h pre svake pojedinačne doze TAA (300 mg/kg). Parametri oksidativnog stresa u mozgu su određeni 24 h nakon tretmana.

Nivo MDA se nije značajno razlikovao u korteksu, hipokampusu i *nc. caudatusu* životinja iz FIN+TAA i TAA grupe, dok je u talamusu nivo MDA bio značajno viši u FIN+TAA u odnosu na TAA grupu ($p < 0,01$). Pretretman FIN je sprečio pad aktivnosti katalaze izazvan TAA-om u korteksu. Nivo GSH u *nc. caudatusu* je bio značajno niži u FIN+TAA u odnosu na kontrolnu i TAA grupu ($p < 0,01$), dok je aktivnost SOD bila viša u FIN+TAA u poređenju sa kontrolom ($p < 0,05$). U talamusu pretretman FIN sprečava porast aktivnosti glutacione peroksidaze (GPx) izazvan TAA, smanjuje aktivnost GR i katalaze. Iako pretretman FIN-om ne ublažava lipidnu peroksidaciju u mozgu, FIN utiče na antioksidativni kapacitet mozga. U talamusu pretretman finasteridom pogoršava lipidnu peroksidaciju sprečavanjem porasta aktivnosti GPx, smanjenjem aktivnosti GR i katalaze.

P 18

EFEKAT KALCIJUMA NA INTERAKCIJU MITOHONDRIJA I ENDOPLAZMINOG RETIKULUMA U MRKIM ADIPOCITIMA PACOVA

Igor Golić¹, Ksenija Veličković¹, Milica Markelić¹, Ana Stančić², Aleksandra Janković², Milica Vučetić², Vesna Otašević², Biljana Buzadžić², Bato Korac^{1,2} i Aleksandra Korac¹

¹Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija;

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

Mitohondrije u mrkim adipocitima su “termogene organele” zahvaljujući dekuplujućem proteinu (uncoupling protein 1, UCP1, *engl.*) koji energiju elektrohemijskog potencijala usmerava ka produkciji toplote. Poznato je da je aktiviranje procesa termogeneze praćeno povećanjem intracelularne koncentracije kalcijuma (Ca^{2+}). Ca^{2+} ulazi u mrke adipocite po adrenergičkoj aktivaciji, a organele koje ga preuzimaju i deponuju su mitohondrije i endoplazmin retikulum. Mitohondrije i endoplazmin retikulum održavaju međusobne bliske kontakte omogućavajući interorganelarni transport kalcijuma ne samo u cilju održavanja Ca^{2+} homeostaze, već i optimalnog bioenergetskog statusa ćelije. Zato je cilj ovog rada bio ispitivanje efekata kratkotrajnog Ca-SANDOZ[®] tretmana na interakciju mitohondrija i endoplazminog retikuluma mrkih adipocita pacova.

U eksperimentu su korišćeni mužjaci pacova Wistar soja, starosti dva meseca. Podeljeni su u dve grupe, hranjene standardnom hranom *ad libitum*. Prva grupa pila je Ca-SANDOZ[®] rastvoren u vodi (480 mg/L Ca^{2+}), a druga grupa, koja je služila kao kontrola, česmensku vodu. Nakon 3 dana, životinje su žrtvovane, interskapularno mrko masno tkivo je izolovano i isečeno vibratomom na preseke debljine 50 μm . Preseci su potom inkubirani specifičnim fluorescentnim markerima mitohondrija (MitoTracker Orange CMTMROS) i endoplazminog retikuluma (ER-Tracker Green), posmatrani i analizirani na konfokalnom mikroskopu Leica TCS SP5 II, a stepen kolokalizacije mitohondrija i endoplazminog retikuluma određen je LAS AF softverom.

Dobijeni rezultati pokazuju da Ca-SANDOZ[®] tretman značajno povećava stepen kolokalizacije mitohondrija i endoplazminog retikuluma (sa 43,7% na 68,7%). Ovako izražena interakcija ovih organela posledica je povećane potrebe za interorganelarnim transportom Ca^{2+} u cilju osiguranja optimalnog bioenergetskog statusa mrkih adipocita usled aktivirane termogeneze.

P 19

UGLJEN MONOKSID (CO) – NOVI MOLEKUL U TRETMANU AUTOIMUNOSTI USMERENE KA PANKREASNIM OSTRVCIMA

Ivana Nikolić¹, Milica Vujičić¹, Tamara Saksida¹, Ferdinando Nicoletti², Ivana Stojanović¹ i Stanislava Stošić-Grujičić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11108 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Kataniji, Medicinski fakultet, Katanija, Italija.

Ugljen monoksid (CO), endogeni produkt katabolizma hema, identifikovan je kao mogući terapijski molekul zbog svojih anti-apoptotskih i anti-inflamatornih osobina. CORM-A1, hemijski sintetisan molekul, utiče na fiziološke funkcije kontrolisanim otpuštanjem CO. Kako smo već pokazali da davanje CORM-A1 tokom izazivanja dijabetesa višestrukim malim dozama streptozotocina kod C57BL/6 miševa poboljšava kliničke i histološke znake bolesti, cilj ove studije bio je da se ispita dejstvo CORM-A1 na nivou ciljnih tkiva, pankreasnih ostrvaca.

Pankreasna ostrvca izolovana iz C57BL/6 miševa kao i modeli β -ćelija pankreasa, pacovske (RINm5F) i mišje (MIN6) ćelije insulinoma, stimulisani su koktelom citokina (IFN- γ +TNF- α +IL-1 β) u prisustvu ili odsustvu CORM-A1, neaktivne forme CORM-A1 (iCORM-A1) ili hemoglobina (Hgb). Efekti citokinskog stimulusa ispitani su određivanjem vijabiliteta ostrvaca i ćelija (MTT test), apoptoze (histon-DNK ELISA) i određivanjem aktivnosti kaspaze-3 (kolorimetrijski), kao i merenjem ekspresije različitih signalnih molekula (imunoblot).

Rezultati MTT testa ukazuju da tretman CORM-A1 poboljšava preživljavanje ostrvaca, RINm5F i MIN6 ćelija nakon toksičnog stimulusa citokina. Protektivni efekti CO poništeni su kada je dodat iCORM-A1, koji ne oslobađa CO, ili Hgb, koji je hvatač CO. Takođe, CORM-A1 tretman štiti ćelije od apoptoze indukovane citokinima, i ova protekcija posredovana je smanjenjem ekspresije citohroma *c*, kao i smanjenjem aktivacije egzekutorske kaspaze 3. Tretman CORM-A1 nije uticao na ekspresiju signalnih molekula: p38 mitogenom-aktivirane protein kaspaze, Jun N-terminalne kinaze, kao i NF κ B.

Naši rezultati ukazuju da se poželjni efekti CORM-A1 u dijabetesu bar delom mogu pripisati sprečavanju pro-apoptotskog dejstva citokina posredstvom kontrolisanog oslobađanja CO unutar endokrinog pankreasa.

Rad je finansiran sa projekata: EFSD, New Horizons Collaborative Research Initiative 2013 i MPNTR, #173013.

P 20

ANALIZA SADRŽAJA MASNIH KISELINA U SNEK PROIZVODIMA

Slađana Šobajić, Jasmina Timić i Sanja Đukić

Univerzitet u Beogradu, Farmaceutski fakultet, Katedra za bromatologiju, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija.

„Brza hrana“ kojoj pripadaju i snek proizvodi deo su svakodnevne ishrane, posebno mlađe populacije. Prema Pravilniku, snek proizvodi svrstavaju se u promet kao: čips, čips proizvodi, flips, proizvodi na bazi peleta, ekspanzirani proizvodi, prženi i suvopečeni proizvodi, semenke i srodni proizvodi. Većina snek proizvoda obiluje zasićenim mastima za koje je naučno dokazano da imaju nepovoljan efekat na zdravlje ljudi, dovodeći do povećanja nivoa „lošeg“ LDL holesterola, triglicerida, kardiovaskularnih oboljenja. Cilj ovog rada bio je analiza sadržaja masnih kiselina snek proizvoda dostupnih na tržištu Srbije, a koja se najčešće konzumira u našoj populaciji.

Dvanaest vrsti snek proizvoda domaćih i stranih proizvođača (flips proizvodi, čips proizvodi, kokice i pržen kukuruz) analizirano je na sadržaj masnih kiselina. Analizirana su četiri flips proizvoda, četiri čips proizvoda i po dve vrste kokica i prženog kukruza različitih proizvođača. Iz uzorka je vršena ekstrakcija lipida, kisela hidroliza masnih kiselina, a zatim su masne kiseline prevođene u odgovarajuće metil-estre. Kvalitativni i kvantitativni sastav određen je metodom gasne hromatografije. Identifikacija masnih kiselina na hromatogramu vršena je na osnovu retencionih vremena standarda.

Najzastupljenije zasićene masne kiseline su palmitinska i stearinska. Analizom sadržaja zasićenih masnih kiselina pokazalo se da je njihov sadržaj najveći u čips proizvodima (12,23-14,13 gr) na 100gr proizvoda, dok najmanji sadržaj istih pokazuje flips proizvod. Od mononezasićenih masnih kiselina najzastupljenija je oleinska, koja ujedno i predstavlja dominantnu masnu kiselinu u svim snek proizvodima. Najveći sadržaj ove masne kiseline iznosio je 9,81 gr na 100 gr proizvoda. Rezultati analize polinezasićenih masnih kiselina pokazuju da su snek proizvodi siromašan izvor polinezasićenih masnih kiselina poput linolne. Najveći sadržaj iste iznosio je 10,29 gr na 100 gr proizvoda u uzorku flipsa, dok je najmanji sadržaj zabeležen u smokiju 1,46 gr. Snek proizvodi su bogat izvor zasićenih, kao i mononezasićene oleinske kiseline, a siromašan izvor polinezasićenih masnih kiselina. Sadržaj masnih kiselina značajno varira i zavisi od uzorka, vrste ulja koje se koristi u proizvodnji, kao i proizvođača. U poslednje vreme pridaje se sve veći značaj zdravoj ishrani, te je poraslo interesovanje za sadržaj masnih kiselina u proizvodima koji se često konzumiraju. Redukcija unosa hrane bogate zasićenim mastima važno je za održavanje opšteg zdravstvenog stanja organizma.

P 21

KOMBINOVANI TRETMAN PARTENOLIDA SA CILJNIM MOLEKULOM–GLUTATIONOM SMANJUJE NJEGOVU ANTI-TUMORSKU AKTIVNOST

Jasna Banković¹, Qing Liu², Ana Podolski-Renić¹, Jelena Dinić¹, Sonja Stojković¹, Zorica Milošević¹, Tijana Stanković¹, Vedrana Milinković¹, Nikola Tanić¹, Harro Bouwmeester² i Milica Pešić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

²Wageningen University, Laboratory of Plant Physiology, Wageningen, the Netherlands.

Partenolid pripada seskviterpenskim laktonima, glavnoj grupi biljnih sekundarnih metabolita. Partenolid je glavni bioaktivni sastojak biljke *Tanacetum parthenium*, koja se koristi za lečenje temperature, glavobolje, menstrualnih i stomačnih tegoba, artritisa i zapaljenskih procesa. Pokazan je i anti-tumorski potencijal partenolida.

U ovoj studiji, klasičnim testom vijabilnosti (sulforodamin B) uporedili smo efikasnost partenolida kod parova senzitivnih i rezistentnih humanih tumorskih ćelijskih linija nesitnoćelijskog karcinoma pluća (NCI-H460 i NCI-H460/R) i kolorektalnog adenokarcinoma (DLD1 i DLD1-TxR), kao i kod humanih normalnih keratinocita (HaCaT). Ispitano je i dejstvo kombinacija partenolida sa glutationom (GSH) i cisteinom (cys), kao i dejstvo konjugata partenolida: partenolid-GSH i partenolid-cys. Detekcijom dihidroetidijuma fluorescentnom mikroskopijom analiziran je potencijal samog partenolida i njegovih konjugata za stvaranje superoksida. Partenolid je pokazao značajnu selektivnost ka tumorskim ćelijama, a njegova efikasnost je očuvana i kod rezistentnih tumorskih ćelija. Međutim, aktivnost partenolida je bila značajno smanjena u prisustvu egzogeno dodatog GSH i cys. Ovo smanjenje je bilo izraženije kada su više koncentracije GSH i cys primenjene u kombinaciji sa partenolidom. Konjugati partenolida sa GSH i cys su imali još slabiji efekat na rast tumorskih ćelija. Iako manje efikasni, konjugati su zadržali selektivnost ka ćelijama kolorektalnog adenokarcinoma. Stvaranje superoksidnog anjona pod dejstvom partenolida značajno je smanjeno kada su umesto partenolida bili primenjeni njegovi konjugati sa GSH i cys.

Imajući u vidu dobijene rezultate, možemo zaključiti da je uklanjanje GSH glavni mehanizam dejstva partenolida kod tumorskih ćelija, kao i da je dejstvo partenolida nezavisno od prisustva rezistentnog fenotipa. Stvaranje superoksida posredno ukazuje na smanjenu efikasnost detoksifikacionog sistema, odnosno interakciju partenolida sa GSH. Razumno je pretpostaviti da razlika u koncentraciji unutarćelijskog GSH upravo čini da partenolid bude efikasniji kod tumorskih nego kod normalnih ćelija.

PROOKSIDATIVNI EFEKTI BAKRA NA OKSIDATIVNO- ANTIOKSIDATIVNI ZAŠTITNI STATUS ERITROCITA PACOVA

Jelena M. Mladenović¹, Milica G. Paunović¹, Miloš M. Matić¹, Nataša Z. Đorđević²,
Goran M. Babić^{3,4}, Veroljub S. Knežević⁵, Branka I. Ognjanović¹, Andraš Š. Štajn¹ i
Zorica S. Saičić⁶

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

²Državni Univerzitet u Novom Pazaru, Departman za biologiju, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Srbija;

³Klinički centar u Kragujevcu, Departman za akušerstvo i ginekologiju, Zmaj Jovina 30, 34000 Kragujevac, Srbija;

⁴Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Svetozara Markovića 69, 34000 Kragujevac, Srbija;

⁵Odeljenje za laboratorijsku dijagnostiku „Dom zdravlja Kragujevac”, Kralja Milutina 1, 34000 Kragujevac, Srbija;

⁶Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Odeljenje za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Bakar (Cu) čini integralnu komponentu mnogih metaloproteina i enzima koji učestvuju u brojnim biološkim procesima neophodnim za normalan rast i razvoj organizma i jedan je od najznačajnijih esencijalnih mikroelemenata. Povećane koncentracije slobodnih jona Cu mogu preko Fenton-ove reakcije da katalizuju formiranje reaktivnih vrsta kiseonika (*engl.* reactive oxygen species, ROS). U cilju ispitivanja prooksidativnih efekata Cu na oksidativni status eritrocita i hematološko-biohemijske procese u krvi, mužjaci pacova soja *Wistar albino* (stari 8 nedelja, telesne mase 210 ± 20 g) tretirani su bakar hloridom - CuCl_2 (150 mg CuCl_2/kg telesne mase) preko vode za piće u trajanju od 5 nedelja.

Rezultati pokazuju da je subhronični tretman CuCl_2 doveo do značajnih ($p < 0.05$) promena hematoloških i biohemijskih parametara: smanjenja ukupnog broja eritrocita (RBC), koncentracije hemoglobina (Hb) i vrednosti hematokrita (Hct), a do povećanja aktivnosti alanin-aminotransferaze (ALT), aspartat-aminotransferaze (AST) i laktat-dehidrogenaze (LDH) u serumu tretiranih životinja u poređenju sa kontrolama. Nakon subhronične intoksikacije CuCl_2 statistički su ($p < 0.05$) povećane koncentracije biomarkera oksidativnog stresa u eritrocitima: lipidnih peroksida (LPO) i superoksid anjon radikala (O_2^-), kao i aktivnost bakara cink sadržavajuće superoksid-dismutaze (CuZn SOD), a aktivnost katalaze (CAT) nije povećana.

Na osnovu svih dobijenih rezultata može se zaključiti da je Cu u subhroničnom tretmanu uzrokovao oksidativna oštećenja eritrocita, promene hematoloških i biohemijskih parametara u krvi, kao i promene aktivnosti enzima CuZn SOD. Cu je ispoljio prooksidativne efekte na oksidativno-antioksidativni zaštitni status eritrocita i na hematološko-biohemijske procese u krvi.

P 23

OKSIDATIVNI STRES KOD NOSIOCA MUTACIJA I R202Q HOMOZIGOTA GENA ZA PORODIČNU MEDITERANSKU GROZNICU

Jelena Radović¹, Jelena Vojinović², Tatjana Jevtović-Stoimenov³, Vladmila Bojanić¹,
Gordana Kocić³, Andrej Veljković³ i Dušica Pavlović³

¹Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, Institut za patofiziologiju, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija;

²Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, Klinički centar, Klinika za dečije interne bolesti, Bul. Zorana Đinđića 48, 18000 Niš, Srbija;

³Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu, Institut za biohemiju, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija.

Gen za porodičnu mediteransku groznicu (*MEFV*) kodira protein pirin, jedan od regulatora aktivacije inflamazoma u ćelijama urođenog imunskog sistema. Smatra se da mutacije u *MEFV* genu mogu dovesti do naizgled spontane aktivacije neutrofila i monocita sa sekrecijom proinflamatornih citokina (IL-1 β) i oksidativnom eksplozijom. Cilj rada bio je utvrditi parametre oksidativnog stresa u osoba sa pojedinačnom mutacijom *MEFV* gena, kao i u R202Q homozigota, uzimajući u obzira dozno-zavisni efekat ovih genskih promena.

100 uzoraka DNK je testirano na prisustvo mutacija *MEFV* gena korišćenjem ABI PRISM 310 automatizovanog sekvensera. Reaktivne supstance tiobarbiturne kiseline (TBARS) u eritrocitima i plazmi, kao i uznapredovali oksidativni produkti proteina, su određivani odgovarajućim spektrofotometrijskim metodama. Aktivnost superoksid dizmutaze (SOD) u eritrocitima i plazmi je određivana po metodi McCord i Fridovich, dok je aktivnost katalaze merena upotrebom katalaza ELISA kita.

Od 11% nosioca mutacija, 6% je imalo E148Q i 5% K695R mutaciju, dok je 10 osoba bilo homozigotno za R202Q polimorfizam. Nivo TBARS u eritrocitima bio je značajno viši u osoba sa navedenim promenama *MEFV* gena ($p=0,03$). Takođe, plazmatska aktivnost SOD bila je viša u ovih osoba ($p=0,049$) u odnosu na osobe bez promena ispitivnog gena. Iako je aktivnost SOD i katalaze u eritrocitima bila snižena rezultati nisu bili statistički značajni.

Nosioci E148Q i K695R mutacija, kao i R202Q homozigoti, imaju blage promene parametara oksidativnog stresa, što bi u dugoročnom periodu mogao biti jedan od faktora rizika češćeg razvoja inflamatornih i imunskih bolesti kod ovih osoba.

P 24

PROCENA PRODUKCIJE SLOBODNIH RADIKALA KISEONIKA U PERITONEALNIM MAKROFAGIMA MIŠA SEMIKVANTITAVNIM MIKROSKOPSKIM NBT TESTOM

Jelena Živković¹, Sanja Stojanović¹, Jelena Najdanović¹, Dragana Tričković-Vukić¹, Milica Stanisavljević², Marija Vukelić¹, Jelena Rajković², Vladimir Cvetković², Jelena Živanov-Čurlis¹ i Stevo Najman¹

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Institut za biologiju i humanu genetiku, Bulevar dr Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija; ²Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, Višegradaska 33, 18000 Niš, Srbija.

Peritonealna duplja se često koristi kao izvor makrofaga za imunološka, biohemijska, molekularna i razna pretklinička istraživanja. Makrofagi imaju sposobnost da luče citokine, slobodne radikale kiseonika i druge proizvode, utičući takvim mehanizmima na različite fiziološke i patofiziološke procese u organizmu. Njihova sekretorna aktivnost može biti stimulisana i modulirana različitim faktorima i agensima, među kojima je i bakterijski lipopolisaharid (LPS). NBT (Nitroblue tetrazolium, *engl.*) se koristi u esejima za procenu fagocitne aktivnosti i produkcije slobodnih kiseonikovih radikala u fagocitnim ćelijama, a zasnovan je na redukciji rastvorljive NBT supstance do nerastvorljivog tamnog formazana.

Cilj našeg rada bio je da se ispita uticaj različitih doza LPS-a na *in vitro* aktivaciju oksidativnog metabolizma rezidentnih peritonealnih makrofaga (RPM) i tioglikolatom elicitiranih peritonealnih makrofaga (TEPM) miša. U tu svrhu su TEPM dobijeni ispiranjem peritoneuma Balb/c miševa četiri dana posle elicitanje tioglikolatom, a RPM ispiranjem peritoneuma bez prethodne elicitanje. RPM i TEPM su u pločama sa 12 bunara sa gustinom od 2×10^6 po bunaru inkubirani sa LPS u koncentracijama 0 ng/ml, 1 ng/ml, 10 ng/ml i 100 ng/ml tokom 24 sata, a zatim je procenjivana njihova sposobnost redukcije NBT mikroskopskim testom. Za ovo istraživanje je modifikovan NBT test tako da se ćelije mogu analizirati bez prethodnog bojenja. Makrofagi su klasifikovani prema stepenu redukcije NBT u rangu od 0 do 3, a njihovim nezavisnim brojanjem je dobijen semikvantitavni test.

LPS aktivira procese oksidativnog metabolizma u RPM i TEPM, što se manifestuje kroz promenu njihove sposobnosti da redukuju NBT. Stepenu aktivacije peritonealnih makrofaga zavisi od doze LPS u kojoj su inkubirani, kao i od tretmana peritoneuma pre izolacije makrofaga.

P 25

ELEKTRON PARAMAGNETNA REZONANTNA SPEKTROSKOPIJA U PROCENI ANTI-DPPH RADIKALSKE AKTIVNOSTI REALNIH UZORAKA I FITOLA

Jovana Randelović¹, Boris Pejin², Yong Kien-Thai³, Aleksandar Savić², Daria Blažinčić⁴, Irena Brajković⁴, Bojan Radović⁵, Ksenija Radotić² i Miloš Mojović¹

¹Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Studentski trg 12-16, 11158 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Institut za multidisciplinarna istraživanja - IMSI, Odsek za nauke o živim sistemima, Kneza Višeslava 1, 11030 Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Malaji, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biološke nauke, 50603 Kuala Lumpur, Malezija;

⁴Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11158 Beograd, Srbija;

⁵Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Katedra za organsku hemiju, Studentski trg 16, 11158 Beograd, Srbija.

Hipertenzija ne predstavlja jednostavan poremećaj krvnog pritiska (već je proizvod genetskih i stečenih strukturnih poremećaja) i smatra se da je u osnovi slobodno-radikalne prirode. Glavni je faktor rizika za nastanak bolesti srca kojima se pripisuje vodeći uzrok mortaliteta na svetu. Stoga se posebna pažnja posvećuje ispitivanjima hrane i prirodnih organskih jedinjenja sa kardioprotektivnom aktivnošću.

Moderna zapadna medicina ističe blagotvorne efekte vina u tretmanu hipertenzije i srčanih oboljenja. S druge strane, tradicionalna kineska medicina preporučuje upotrebu *Rhodobryum* mahovina (čaj) u datu svrhu. Preliminarna studija isparljivih komponenti vrste *Rhodobryum ontariense* ukazala je na obilnost diterpenskog alkohola fitola (31.95 %; glavna komponenta), bioaktivnog prirodnog proizvoda koji snižava povećane nivoe triglicerida i holesterola.

U ovom radu prikazani su rezultati dobijeni za anti-DPPH radikalnu aktivnost tri uzorka vina *Vranac* (13. jul Plantaže A.D. Podgorica; 2012), jednog uzorka čaja (*R. ontariense*; Fraserovo brdo, Malezija; 2012) i jednog uzorka fitola (Sigma-Aldrich) određenu EPR spektrometrom u *in vitro* uslovima. Svi uzorci pokazali su dobru antiradikalnu aktivnost, ali u različitoj meri: 48 % (fitol), 78 % (čaj) i ~ 94 % (vina). Pretpostavlja se da veća anti-DPPH radikalna aktivnost realnih uzoraka prvrnstveno potiče od sadržaja ugljenih hidrata (čaj) i polifenola (vina). Po reakciji ispitivanih uzoraka sa DPPH radikalima nije uočen nastanak drugih slobodnih radikala. Dalja istraživanja hemijskog sastava i/ili antiradikalne aktivnosti navedenih uzoraka imaju za cilj da uslove razvoj nove antihipertenzivne terapije; između ostalog, trebalo bi da obuhvate *in vivo* EPR i fiziološki relevantne slobodne radikale.

Rad je finansiran sa projekata: III 41005, III 45012, 172053 i 173040.

P 26

**EFEKTI EKSTRAKATA BILJKE *Teucrium chamaedrys* L. NA
APOPTOTSKI SIGNALNI PUT I REDOKS STATUS ČELIJA
KARCINOMA KOLONA**

Milena Čurčić, Milan Stanković, Danijela Cvetković, Dragana Šeklić i Snežana Marković

Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija.

T. chamaedrys L. je višegodišnja polužbunasta biljka iz porodice Lamiaceae i predstavlja jednu od veoma korišćenih lekovitih biljaka u narodnoj medicini za lečenje digestivnih problema. Cilj istraživanja je ispitivanje mehanizama citotoksičnosti metanolnog, etilacetatnog i acetonskog ekstrakta biljke *T. chamaedrys*, kao i parametara oksidativnog stresa u ćelijama karcinoma kolona nakon 24 i 72 sata.

Citotoksičnost je određivana MTT testom, a tip ćelijske smrti AO/EB metodom na fluorescentnom mikroskopu. Proteinska ekspresija Fas receptora na ćelijskoj membrani i inducibilne azot oksid sintaze (iNOS) određivana je imunoflorescencom. Aktivnosti kaspaza 8 i 9 su određivane kolorimetrijskom metodom. Koncentracije superoksid anjon radikala (O_2^-), azot oksid (NO) i redukovanog glutationa (GSH) određivane su spektrofotometrijski.

Ekstrakti biljke *T. chamaedrys* pokazuju citotoksične efekte na SW480 ćelijama. Najbolju citotoksičnost pokazuje metanolni ekstrakt nakon 72 sata, sa IC_{50} vrednosti (koncentracija koja ubija 50% ćelija) od 20.87 $\mu\text{g/ml}$. Ekstrakti izazivaju tipične morfološke promene karakteristične za proces apoptoze, koja je procentualno najviše zatupljena, dok se nekroza javlja u veoma niskim procentima. U tretiranim ćelijama se povećava proteinska ekspresija Fas receptora na membrani u odnosu na kontrolne ćelije. Odgovarajući ligandi iz ekstrakta vezani za Fas receptore u daljem signalnom putu apoptoze aktiviraju kaspazu 8, čija je aktivnost takođe povišena u odnosu na kontrolne ćelije. Aktivnost kaspaze 9, koja se aktivira oslobađanjem citohroma *c* iz mitohondrija je povećana, što ukazuje i na aktivaciju unutrašnjeg apoptotskog puta. Ekstrakti povećavaju koncentraciju O_2^- i GSH u tretiranim ćelijama, inhibiraju proteinsku ekspresiju iNOS i time dovode do smanjenja koncentracije NO, što pomaže ćelijama da udju u proces apoptoze. Ispitivani parametri ukazuju na prisustvo oksidativnog stresa u tretiranim ćelijama i prooksidativna svojstva ekstrakata što je u vezi sa njihovom citotoksičnošću.

Dobijeni rezultati pokazuju da je biljka *T. chamaedrys* veoma značajan izvor prirodnih bioaktivnih supstanci koje ispoljavaju značajnu citotoksičnu i apoptotsku aktivnost na ćelijama karcinoma kolona.

P 27

KOPRIVA - POTENCIJALNI IZVOR PRIRODNIH ANTIOKSIDANATA

Ljiljana Stanojević¹, Mihajlo Stanković¹, Vesna Nikolić¹, Dušica Ilić¹, Milorad Cakić¹,
Ljubiša Nikolić¹ i Vesna Savić²

¹Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet, Bulevar Oslobođenja 124, Leskovac, Srbija;

²Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Bulevar dr Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija.

Kopriva (*Urtica dioica* L.) je višegodišnja, zeljasta biljka. To je korovska biljka cenjena kako u narodnoj tako i u naučnoj medicini. Vekovima se koristila u tradicionalnoj medicini kao lekovita biljka. Novija istraživanja su pokazala njenu delotvornost u svakodnevnoj ishrani i fitoterapiji. Od biljke se kao droga koristi koren (*Urticae radix*), list (*Urticae folium*) i odgovarajući preparati.

Ekstrakti lista koprive dobijeni su primenom različitih tehnika ekstrakcije (maceracija na sobnoj temperaturi i temperaturi ključanja, ultrazvučna, Soxhlet i Tillepape ekstrakcija) 50% v/v metanolom, pri odnosu biljni materijal-rastvarač 1:20 m/v. Antioksidativna aktivnost dobijenih ekstrakata ispitivana je spektrofotometrijski primenom DPPH, FRAP i H₂O₂ metode. Sadržaj ukupnih fenola je određen spektrofotometrijski metodom po Folin-Ciocalteu, a sadržaj ukupnih flavonoida metodom sa AlCl₃.

Dobijeni vodeno-metanolni ekstrakti lista koprive imaju visok sadržaj fenola nezavisno od primenjene tehnike ekstrakcije, dok je sadržaj ukupnih flavonoida znatno niži. Najveći sadržaj fenola (539.27 mg GKE/g suvog ekstrakta) i flavonoida (52.96 mg RE/g suvog ekstrakta) utvrđen je u ekstraktu dobijenom Soxlet ekstrakcijom.

Najbolju antioksidativnu aktivnost pokazao je ekstrakt dobijen Soxhlet ekstrakcijom, a najmanju ekstrakt dobijen ultrazvučnom ekstrakcijom, nezavisno od primenjene antioksidativne metode. Prezentovani podaci o antioksidativnoj aktivnosti ekstrakata pokazuju da dobijeni ekstrakti predstavljaju potencijalni izvor prirodnih antioksidanata.

Rad je finansiran sa projekta TR 34012.

P 28

IN VITRO EFEKTI HOMOCISTEIN TIOLAKTONA NA PARAMETRE OKSIDATIVNOG STRESA CREVA I JETRE PACOVA

Marija Stojanović¹, Ljiljana Šćepanović¹, Olivera Bosnić¹, Dušan Mitrović¹, Vuk Šćepanović², Radomir Šćepanović³, Teja Stojanović⁴, Milica Stojković⁵, Slobodan Ilić⁶ i Dragan Đurić¹

¹*Institut za medicinsku fiziologiju „Rihard Burijan“, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu, 11000 Beograd, Srbija;*

²*Institut za neurohirurgiju, Klinički centar Srbije, 11000 Beograd, Srbija;*

³*Univerzitet odbrane u Beogradu, Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije, 11000 Beograd, Srbija ;*

⁴*Institut za neonatologiju, 11000 Beograd, Srbija;*

⁵*Klinika za gastroenterologiju, Klinički centar Srbije, 11000 Beograd, Srbija;*

⁶*Univerzitetska dečija klinika, 11000 Beograd, Srbija.*

Oksidativni stres igra važnu ulogu u patogenezi nekih gastrointestinalnih zapaljenskih oboljenja. Povećani nivoi homocisteina mogu biti od značaja u patogenezi Kronove bolesti i ulceroznog kolitisa. Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj homocisteina na antioksidativni status creva i jetre pacova.

Posle inkubacije duodenum, ileum, kolon i jetra su homogenizovani i ispitivani su različiti parametri oksidativnog stresa. Ispitivan je nivo reaktivnih supstanci tiobarbiturne kiseline (TBARS), aktivnost katalaze i totalni antioksidativni status (TAS) na izolovanim segmentima creva i jetre kod mužjaka pacova posle tročasovne inkubacije u prisustvu visokih koncentracija D,L-homocistein tiolaktona (10 μ mol/L).

Naši rezultati pokazuju da visoke koncentracije D,L-homocistein tiolaktona smanjuju enzimsku aktivnost katalaze u izolovanim delovima creva, inhibirajući ga za 27,04% u duodenumu ($p < 0,01$); za 37,27% u ileumu, za 34,17% u kolonu i za 67,46% u jetri ($p < 0,001$). Izlaganje visokim koncentracijama D,L-homocistein tiolaktona značajno povećava nivo TBARS u duodenumu za 106,05%, ileumu za 47,24%, u kolonu za 112,75% i u ujetri za 32,07% ($p < 0,01$). Homocistein takođe modifikuje totalni antioksidativni status homogenata duodenuma, ileuma, kolona i jetre, povećavajući ga za 20,68% (duodenum), 24,74% (ileum), 14,88% (kolon), 19,35% (jetra) ($p < 0,001$).

Homocistein dovodi do oksidativnog stresa u crevu i jetri pacova. Povišena aktivnost TAS nastaje kao adaptivni odgovor na akutno stvaranje slobodnih radikala. Međutim i pored povećanog TAS slobodni radikali nastali pod uticajem D,L-homocistein tiolaktona dovode do oštećenja tkiva i lipidne peroksidacije što ukazuje na neuspeh ukupnog mehanizma antioksidativne odbrane da štiti tkivo od mehaničkih oštećenja izazvanih homocisteinom.

P 29

MOGUĆNOST PRIMENE EKSTRAKTA GINKGA U ZAŠTITI KOŽE OD UV ZRAČENJA

Marijana Milosavljević i Jasna Savić

Farmaceutsko-fizioterapeutska škola, Donska 27-29, 11050, Beograd, Srbija.

Formiranje slobodnih radikala u koži najčešće je posledica sunčevog zračenja. Slobodni radikali i reaktivne vrste kisonika (*engl.* reactive oxygen species, ROS) oštećuju DNK, proteine i ćelijske membrane. Imaju značajnu ulogu u lančanoj reakciji lipidne peroksidacije koja je odgovorna za destrukciju ćelijske membrane. Sve ove reakcije vode do nastanka pojave kancera, ubrzanog starenja i inflamatornih promena kože.

Koža je snabdevena antioksidantima (vitamini C i E, superoksid dismutaza, glutation peroksidaza i katalaza) koji je štiti od štetnih efekata ROS. Ova odbrana može biti ugrožena povećanim izlaganjem spoljašnim izvorima ROS-a kao što je UV zračenje.

Ekstrakt lista *Ginkgo biloba* L. *Ginkgoaceae* (GB) sadrži kompleks flavonoidnih heterozida kvercetin, kemferol i amentoflavon. Najčešće se koristi kod različitih oblika demencije, kod oboljenja prouzrokovanih okluzijom perifernih vena, kod vertiga i poremećaja sluha. Nedavnim ispitivanjima flavonoida kvercetina dokazano je da štiti lipozomsku membranu koja se sastoji od fosfatidil holina, od UV indukovane peroksidacije. Utvrđena je antioksidativna aktivnost i sposobnost vezivanja hidroksil, superoksid i peroksil radikala ekstrakta *Ginkgo biloba* koji je sadržao 0,99 µg/mg fenola i 0,44 µg/mg flavonoida. Testom hemiluminiscencije utvrđen je visok nivo sposobnosti hvatanja slobodnih radikala ekstrakta GB, dok je DPPH[•] testom utvrđena sposobnost doniranja H jona od 88 % merena na 517 nm. Na izolovanim mitohondrijama jetre pacova pokazana je sposobnost inhibicije lipidne peroksidacije, što je veoma značajno s obzirom da ovaj proces učestvuje u mnogobrojnim reakcijama koje su povezane sa oksidativnim stresom i često se povezuju sa ćelijskom smrću. *In vitro* ispitivanjima na modelu humane kože potvrđeno je da flavonoid kvercetin može prodrati kroz stratum corneum do dubljih slojeva kože.

Ovi rezultati dobijeni različitim metodama sugerišu da se ekstrakt *Ginkgo biloba* L. *Ginkgoaceae* zahvaljujući visokom sadržaju polifenola i flavonoida kao potentni antioksidans može koristiti u formulacijama za lokalnu primenu u cilju zaštite kože od oštećenja uzrokovanim UV zračenjem.

P 30

CITOTOKSIČNI I ANTIOKSIDATIVNI–PROOKSIDATIVNI EFEKTI DERIVATA KUMARINA NA ĆELIJSKOJ LINIJI HUMANOG KOLON KANCERA HCT-116

Marko Živanović¹, Jelena Košarić¹, Dragana Šeklić¹, Danijela Cvetković¹, Milena Ćurčić¹, Slobodan Sukdolak² i Snežana Marković¹

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

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

Kumarini su klasa hemijskih jedinjenja široko rasprostranjenih u biljnom svetu. Kumarini pokazuju izuzetan niz biohemijskih i farmakoloških aktivnosti. Poznato je dejstvo derivata kumarina u farmaceutskoj industriji, gde se koriste za tretiranje različitih disfunkcija organizma, uključujući i tumor. Razvoj sinteze i modifikacije kumarina kao antioksidanasa izazvao je veliko interesovanje u poslednjoj dekadi.

Cilj rada bio je ispitivanje citotoksičnih i antioksidativnih–prooksidativnih efekata na ćelijskoj liniji humanog kolon kancera HCT-116. Citotoksičnost (MTT test) i parametri redoks statusa, tj. NBT test za određivanje koncentracije superoksid anjon radikala ($O_2^{\cdot-}$), Griess test za određivanje koncentracije nitrita i GSH test za određivanje koncentracije redukovano glutationa (GSH), nakon 24h i nakon 72h pokazuju citotoksično i antioksidaciono/prooksidaciono dejstvo koje je u korelaciji sa hemijskom strukturom ispitivanih derivata. Derivati sa amino, imino i nitro grupom vezanom na tiazol kumarin (polarniji derivati) pokazuju statistički značajnije povećanje u sadržaju $O_2^{\cdot-}$, kao i značajniju citotoksičnost. Manje polarni derivati ne pokazuju značajnu promenu sadržaja $O_2^{\cdot-}$, kao ni značajniju citotoksičnost. Kao kod MTT i NBT testa, Griess test indikativno pokazuje sličan efekat, sa jasnom razlikom između ispitivanih derivata. Sa povećanjem koncentracije manje polarnih kumarina smanjuje se koncentracija nitrita, indikatora azot monoksida (NO), što je u korelaciji sa poznatom činjenicom da $O_2^{\cdot-}$ poseduje izuzetno visok afinitet prema NO. Sa druge strane, polarnija jedinjenja smanjujući koncentraciju $O_2^{\cdot-}$ sinergistički utiču na povećanje sadržaja NO. Slično kao kod praćenja sadržaja NO, ispitivani kumarini sinergistički utiču na smanjenje sadržaja GSH kod manje polarnih derivata ili pak na povećavanje sadržaja GSH kod više polarnih derivata.

Bez sumnje, sadržajnije razumevanje mehanizama delovanja prirodnih kumarina i njihovih sintetičkih derivata može ponuditi osnovu za jedan racionalniji pristup u ispitivanju biološke aktivnosti ove klase jedinjenja.

P 31

REMODELIRANJE MITOHONDRIJA ACINUSNIH ĆELIJA PANKREASA PACOVA U DIJABETESU INDUKOVANOM ALOKSANOM

Mila Pajević^{1,2}, Ana Stančić³, Igor Golić¹, Milica Markelić¹, Ksenija Veličković¹, Aleksandra Janković³, Milica Vučetić³, Vesna Otašević³, Biljana Buzadžić³, Bato Korac^{1,3} i Aleksandra Korac¹

¹Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija;

²Klinički centar Srbije, Služba za patohistologiju, Koste Todorovića 6, 11000 Beograd, Srbija;

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

Za razliku od dobro proučenih promena mitohondrija beta ćelija Langerhansovih ostrvaca u dijabetesu, malo je podataka o njihovim promenama u acinusnim ćelijama egzokrinog pankreasa. Zato je cilj ovog rada bio ispitivanje promena mitohondrialne populacije acinusnih ćelija pankreasa pacova u dijabetesu izazvanom aloksanom.

U eksperimentu su korišćeni mužjaci pacova *Mill Hill* soja. Dijabetes je indukovao jednokratnim davanjem aloksana subkutano u dozi 120 mg/kg telesne mase. Nakon žrtvovanja, pankreas je izolovan, fiksiran u 2.5% glutaraldehidu u 0.1M fosfatnom puferu, postfiksiran 2% osmijum tetraoksidom u istom puferu i rutinskim postupkom ukalupljen u Araldit.

Volumenska gustina mitohondrija i broj mitohondrijalnih profila određivani su sa elektron-mikrografija istovetnog uvećanja metodom Weibl-a. Acinusne ćelije pankreasa pacova u dijabetesu pokazale su izmenjenu morfologiju na nivou mitohondrijalne populacije. U dijabetesu se statistički značajno povećava broj mitohondrijalnih profila kao i njihov udeo u volumenu ćelije. Za razliku od kontrolnih filamentoznih mitohondrija sa malim brojem kristi i tamnog matriksa, mitohondrije acinusnih ćelija u dijabetesu su okruglaste, sa većim brojem kristi i prosvetljenog, nabubrelog matriksa.

Dobijeni rezultati pokazuju da dijabetes podjednako nepovoljno utiče i na egzokrini pancreas, da je efekat na mitohondrijama u pravcu mitohondrijalnog uvećanja/bubrenja i neočekivano, u pravcu paralelnog uvećanja volumenskog udela i broja profila mitohondrija u ćeliji. Takođe, pokazana je razlika mitohondrijalnog kompartmenta u jedno- i dvo-jedarnim acinusnim ćelijama.

P 32

UKLANJANJE SUPEROKSIDNOG ANJONA (O_2^-) SMANJUJE LIPIDNU PEROKSIDACIJU I POVEĆAVA AKTIVNOST KATALAZE KOD PACOVA SA UROĐENOM HIPERTENZIJOM (SHR) SA AKUTNOM BUBREŽNOM INSUFICIJENCIJOM (ABI)

Milan Ivanov, Đurđica Jovović, Nevena Mihailović-Stanojević, Jelica Grujić Milanović, Danijela Karanović, Una-Jovana Vajić i Zoran Miloradović

Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja, Dr Subotića 4, 11000 Beograd, Srbija.

Pacijenti sa već postojećom hipertenzijom imaju poseban rizik od smrtnog ishoda usled nastanka akutne bubrežne insuficijencije (ABI). Lipidna peroksidacija i reaktivne vrste kisonika mogu imati važnu ulogu u nastanku i razvoju oštećenja organa usled ishemije. Cilj naše studije je bio da ispitamo ulogu O_2^- na aktivnost enzima oksidativne zaštite i na stepen lipidne peroksidacije kod SHR sa ABI.

Eksperiment je izveden na anesteziranim, šest meseci starim muškim SHR. Desni bubreg je hirurški uklonjen, a leva bubrežna arterija klemovana u trajanju od 40 minuta. Za sakupljanje O_2^- koristili smo mimetik enzima superoksid dismutaze – tempol. SHR su bili podeljeni u tri eksperimentalne grupe: lažno operisane životinje (SHAM; n=7); grupa sa ABI (ABI; n=9); i pacovi sa ABI tretirani tempolom (160mg/kg/b.w.) (ABI+TEM; n=8). Tempol je davan infuzijom u trajanju od 5 minuta pre i 175 minuta nakon reperfuzije. Uzorci krvi sakupljeni su 24 časa nakon reperfuzije. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite (superoksid dismutaze-SOD; katalaza-CAT; glutation peroksidaze-GSH-Px, glutation reduktaze-GR) i vrednosti reaktivnih supstanci tiobarbituratne kiseline (TBARS) određivali smo spektrofotometrijski.

	SHAM	ABI	ABI+TEM
SOD (U/g Hb)·10 ³	2.65 ± 1.2	1.5 ± 0.5	1.9 ± 0.5
CAT μmol H ₂ O ₂ /min/g HB·10 ⁴	22.15 ± 6.06	14.32 ± 2.91	27.55 ± 6.36 [#]
GSH-Px μmol NADPH/min/g Hb	10.87 ± 3.4	8.95 ± 1.7	12.4 ± 1.8
GR μmol NADPH/min/g Hb·10 ⁴	5.0 ± 2.1	2.6 ± 1.1	1.1 ± 0.2
TBARS nmol/ml	7.28 ± 0.38	10.54 ± 0.91*	7.24 ± 0.56 [#]

* p < 0.05 vs. SHAM; # p < 0.05 vs. ABI

Naši rezultati ukazuju da uklanjanje O_2^- dovodi do smanjenja lipidne peroksidacije i povećanja aktivnosti enzima katalaze kod pacova sa urođenom hipertenzijom kod kojih je došlo do razvoja ABI. Ovo ukazuje da reaktivne vrste kiseonika mogu imati bitnu ulogu u nastanku i razvoju ABI u ishemičnim eksperimentalnim uslovima.

P 33

PROOKSIDATIVNI EFEKAT I CITOTOKSIČNOST EKSTRAKATA BILJKE *Ligustrum vulgare* L. NA ĆELIJE KARCINOMA KOLONA

Milena Ćurčić, Milan Stanković, Danijela Cvetković, Marko Živanović i Snežana Marković

Univerzitet u Kragujevcu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju i ekologiju, Radoja Domanovića 12, 34000 Kragujevac, Srbija.

Ligustrum vulgare L. je široko rasprostranjena žbunasta biljka iz familije Oleaceae, koja je zbog prisustva velikog broja bioaktivnih supstanci našla primenu u narodnoj medicini i farmaciji. Cilj istraživanja je ispitivanje citotoksičnosti metanolnog, etilacetonskog i acetonskog ekstrakta biljke *L. vulgare* i uticaja na redoks status ćelija karcinoma debelog creva (SW480 ćelija), nakon 24 i 72 sata.

Citotoksičnost je određivana MTT testom citotoksičnosti. Koncentracije superoksid anjon radikala ($O_2^{\cdot-}$), azot oksida (NO) i redukovano glutationa (GSH) određivane su spektrofotometrijski. Proteinska ekspresija inducibilne azot oksid sintaze (iNOS) određivana je imunoflorescencom.

Citotoksični efekti su izraženi preko IC_{50} vrednosti, koncentracije koja ubija 50% ćelija. Svi ekstrakti dozno i vremenski zavisno inhibiraju ćelijski rast. Najbolju aktivnost pokazuje acetonski ekstrakt nakon 72 sata sa IC_{50} vrednosti od 0.64 $\mu\text{g/ml}$, što predstavlja veoma dobru citotoksičnost. Dobijeni rezultati pokazuju da ekstrakti povećavaju koncentraciju $O_2^{\cdot-}$ i GSH u tretiranim ćelijama, inhibiraju proteinsku ekspresiju iNOS i time dovode do snižavanja koncentracije NO. Ispitivani parametri ukazuju na prisustvo oksidativnog stresa u tretiranim ćelijama i na prooksidaciona svojstva ekstrakata što je u vezi sa njihovom citotoksičnošću.

Na osnovu dobijenih rezultata biljka *L. vulgare* treba biti razmatrana kao moguć izvor bioaktivnih supstanci koje doprinose citotoksičnosti na ćelijama karcinoma kolona.

P 34

ANTIOKSIDATIVNA AKTIVNOST METANOLNIH EKSTRAKATA BILJNE VRSTE *Salvia verbenaca* L.

Milica Kostić¹, Bojan Zlatković², Bojana Miladinović¹, Dragana Pavlović¹, Milica Milutinović¹, Milica B. Petrović¹ i Dušanka Kitić¹

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija;

²Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet, Višegradska 33, 18000 Niš, Srbija.

Biljne vrste roda *Salvia* L. predstavljaju značajan izvor prirodnih antioksidanasa i konzervanasa koji se vekovima koriste u ishrani i proizvodnji lekovitih preparata. *Salvia verbenaca* L. familija Lamiaceae, je aromatična biljna vrsta koja prema dosadašnjim ispitivanjima ispoljava antiinflamatorni, antioksidativni, antimikrobni, antimalarijski i citotoksični efekat. Cilj ovog istraživanja je definisati antioksidativni kapacitet metanolnih ekstrakata pripremljenih od nadzemnih delova biljne vrste *S. verbenaca* koji su sakupljeni u punoj fazi cvetanja na teritoriji grada Niša.

Suvi biljni materijal je ekstrahovan apsolutnim i 80% metanolom u odnosu 1:10, maceracijom i metodom ultrazvuka. Antioksidativni kapacitet dobijenih ekstrakata ocenjen je pomoću dva *in vitro* komplementarna testa u kojima je praćena sposobnost "hvatanja" slobodnih radikala u 2,2-difenilpikrilhidrazil (DPPH) sistemu, kao i inhibicija lipidne peroksidacije u β -karoten/linolna kiselina (BK) modelu.

Rezultati su predstavljeni kao koncentracija ekstrakta koja ostvaruje 50% inhibicije slobodnih radikala (IC_{50}). Svi ekstrakti su ispoljili značajni antioksidativni potencijal, a ekstrakt dobijen 80% metanolom postupkom maceracije je pokazao najjači, statistički značajan efekat u oba ispitivana sistema sa vrednostima IC_{50} od $4.63 \pm 0.18 \mu\text{g/mL}$ u DPPH modelu i $22.69 \pm 2.60 \mu\text{g/mL}$ u BK modelu (ANOVA, Duncan test, $p < 0.05$).

Metanolni ekstrakti biljne vrste *S. verbenaca* su efikasni "hvatači" slobodnih radikala i inhibitori lipidne peroksidacije, međutim neophodno je sprovesti dalja istraživanja kojim bi se potvrdila njihova netoksičnost i bezbednost kako bi našli potencijalno mesto za primenu u humanoj populaciji.

P 35

ISPITIVANJE ANTIOKSIDATIVNE AKTIVNOSTI SOKA ARONIJE
(*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott)

Milica Milutinović¹, Suzana Branković¹, Katarina Šavikin², Gordana Zdunić², Dragana
¹Milica Kostić¹, Bojana Miladinović¹ i Dušanka Kitić¹

¹Univerzitet u Nišu, Medicinski fakultet, Bul. Zorana Đinđića 81, 18000 Niš, Srbija;

²Institut za proučavanje lekovitog bilja dr „Josif Pančić”, Tadeuša Koščuška 1, 11000 Beograd, Srbija.

Aronija (*Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliott, Rosaceae) je biljna vrsta koja se koristi u ishrani, ali se poslednjih godina primenjuje i u savremenoj fitoterapiji u prevenciji mnogih hroničnih nezaraznih bolesti. Brojna su istraživanja koja potvrđuju farmakološka dejstva ove biljne vrste (kardioprotektivno, gastroprotektivno, hepatoprotektivno, hipoglikemijsko, antiinflamatorno, antioksidativno, antimutageno i antikancerogeno).

Cilj ovog rada bio je ispitivanje antioksidativne aktivnosti soka, koji je dobijen od plodova aronije sakupljenih sa plantaže na planini Suvobor (750 m) u Srbiji. Sveži plodovi su gnječeni i ceđeni kroz horizontalnu presu. Sok je filtriran i pasterizovan na 80°C tokom 10 min i čuvan na temperaturi od 4°C do eksperimenta. Antioksidativna aktivnost određivana je pomoću dve komplementarne metode, *in vitro*, DPPH testom kojim je praćena sposobnost “hvatanja” slobodnih radikala u 2,2-difenilpikrilhidrazil (DPPH) sistemu i procenom inhibicije lipidne peroksidacije koja je izvršena u skaldu sa modelom β -karoten/linolna kiselina. Kao pozitivna kontrola korišćen je *Trolox*.

Koncentracija soka aronije koja je bila dovoljna da inhibira stvaranje 50% DPPH-radikala (IC₅₀) bila je 1.25 ± 0.08 mg/ml. Kod modela β -karoten/linolna kiselina, IC₅₀ vrednost koncentracije soka iznosila je 1.73 ± 0.07 mg/ml. *Trolox* je ispoljio bolju aktivnost kod modela β -karoten/linolna kiselina, u poređenju sa DPPH testom (1.69 ± 0.11 i 6.15 ± 0.64).

Rezultati pokazuju da sok aronije ispoljava značajnu antioksidativnu aktivnost, a smatra se da je ona u najvećoj meri posledica prisustva polifenolnih jedinjenja, prvenstveno antocijana, sa visokim antioksidativnim kapacitetom. Potrebno je izvršiti *in vivo* eksperimente kako bi se ovaj preparat sa sigurnošću mogao primenjivati u terapiji.

P 36

PROOKSIDATIVNI EFEKTI KADMIJUMA U ČELIJAMA CITOTROFOBLASTA MIŠA

Milica G. Paunović¹, Miloš M. Matic¹, Nataša Z. Đorđević²,
Goran M. Babić^{3,4}, Branka I. Ognjanović¹, Andraš Š. Štajn¹ i Zorica S. Saičić⁵

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

²Državni univerzitet u Novom Pazaru, Departman za biomedicinske nauke, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Srbija;

³Klinički centar u Kragujevcu, Odeljenje za akušerstvo i ginekologiju, Zmaj Jovina 30, 34000 Kragujevac, Srbija;

⁴Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Svetozara Markovića 69, 34000 Kragujevac, Srbija;

⁵Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Departman za fiziologiju, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Optimalna invazija trofoblasta neophodna je za pravilan proces placentacije u ranim fazama graviditeta. Kadmijum (Cd) je toksičan teški metal široko zastupljen u životnoj sredini. Jedan od glavnih izvora Cd je duvanski dim. Izlaganje trudnica duvanskom dimu može da poremeti funkcionisanje fetoplacentalne jedinice negativno utičući na razvoj embriona.

Cilj ovog istraživanja je bio da se ispita uticaj različitih koncentracija Cd (od 0 do 5 μM) na oksidativno/antioksidativni status ćelija trofoblasta miša.

Ćelije su izlagane rastućim koncentracijama Cd (0.25 μM , 0.5 μM , 2.5 μM , 5 μM) u trajanju od 24 h. Nakon tretmana u ćelijama su određivane koncentracije sledećih parametara: superoksid anjon radikala (O_2^-), vodonik peroksida (H_2O_2), nitrita (NO_2^-), redukovanog glutationa (GSH) i oksidovanog glutationa (GSSG).

Dobijeni rezultati pokazuju povećanu produkciju O_2^- i NO_2^- u ćelijama trofoblasta tretiranim visokim koncentracijama Cd u odnosu na kontrolnu grupu ćelija. Tretman Cd nije značajno uticao na promenu koncentracije H_2O_2 , dok je dozno zavisno stimulisao produkciju GSH i GSSG.

Ovi rezultati pokazuju da je oksidativni stres u trofoblastima proporcionalan koncentraciji Cd kojima su ćelije izlagane. Poremećeni redoks metabolizam u trofoblastima može da uzrokuje promenu migratornog kapaciteta trofoblasta, a samim tim i neadekvatnu placentaciju.

P 37

ANTIDIJABETOGENO DEJSTVO METANOLSKOG EKSTRAKTA
Origanum vulgare

Milica Vujičić, Ivana Nikolić, Ankica Jelenković, Stanislava Stošić-Grujičić i Ivana Stojanović

Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Dijabetes tip 1 (T1D) je autoimunski inflamatorni poremećaj koji nastaje kao posledica destrukcije pankreasnih beta ćelija od strane ćelija imunskog sistema i njihovih medijatora. Kao izvor novih terapijskih pristupa u lečenju T1D često se koriste biljke i njihovi ekstrakti. Cilj ove studije bio je ispitivanje dejstva metanolskog ekstrakta *Origanum vulgare* (OE) na razvoj eksperimentalog T1D miševa.

OE je pripremljen od lišća *O. vulgare*, sekvencijalnom ekstrakcijom u četiri rastvarača rastuće polarnosti (heksan, etil-acetat, dihlor-metan i metanol). *In vitro* efekti OE praćeni su merenjem proliferacije (MTT test) i produkcije citokina (ELISA) od strane splenocita, produkcije azot monoksida (NO) peritonealnih ćelija (Griess reakcija), kao i preživljavanja pankreasnih beta ćelija u prisustvu citotoksičnih citokina (histon-DNK ELISA). T1D je izazvan višestrukim malim dozama streptozotocina (VMDS) u miševima soja C57BL/6, a procena potencijalnog anti-dijabetogenog efekta OE vršena je merenjem nivoa glukoze u krvi nakon desetodnevne primene OE. *Ex vivo* analiza produkcije citokina splenocita (ELISA) i aktivnosti superoksid-dismutaze (SOD) (metoda po Sun) u pankreasnim beta ćelijama vršena je 10. dana po indukciji bolesti.

Primena OE *in vitro* nije promenila bazalnu ni proliferaciju slezinskih ćelija stimulisanih konkanavalinom A, dok je smanjila sekreciju IL-17, bez uticaja na sekreciju IFN- γ i IL-2. OE je redukovao citocidnu funkciju peritonealnih makrofaga smanjenjem njihove produkcije NO. Takođe, OE je sačuvao pankreasne beta ćelije od citotoksičnog dejstva citokina. *In vivo* tretman OE značajno je smanjio kliničke znake bolesti uz očuvanje koncentracije insulina na fiziološkom nivou. *Ex vivo* analiza je ukazala na značajno smanjenje sekrecije IL-17, dok je aktivnost SOD u pankreasnim beta ćelijama bila značajno veća u grupi miševa tretiranih OE u odnosu na VMDS grupu.

Pored citoprotektivnog i imunomodulatornog dejstva OE *in vitro*, pokazano je i antidijabetogeno dejstvo OE koje je ostvareno blokadom Th17 imunskog odgovora kao i povećanjem aktivnosti SOD koje je imalo protektivni efekat na beta ćelije pankreasa.

Rad je finansiran sa projekta OI 173013.

P 38

EFEKAT HIPOKSIJE NA REDOKS STATUS MIŠIJIH TROFOBLASTA

Miloš M. Matić¹, Milica G. Paunović¹, Nataša Z. Đorđević², Goran M. Babić^{3,4}, Branka I. Ognjanović¹, Andraš Š. Štajn¹ i Zorica S. Saičić⁵

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

²Državni univerzitet u Novom Pazaru, Departman za biomedicinske nauke, Vuka Karadžića bb, 36300 Novi Pazar, Srbija;

³Klinički centar u Kragujevcu, Odeljenje za akušerstvo i ginekologiju, Zmaj Jovina 30, 34000 Kragujevac, Srbija;

⁴Univerzitet u Kragujevcu, Fakultet medicinskih nauka, Svetozara Markovića 69, 34000 Kragujevac, Srbija;

⁵Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija.

Trofoblasti su ćelije koje karakteriše visok invazivni potencijal, veliki kapacitet za transcelularni transport materija i produkcija hormona neophodnih za održavanje trudnoće i adaptaciju organizma majke na fiziološke promene tokom graviditeta. Rani razvoj placentarnih resica odvija se u hipoksičnim uslovima zbog čega se smatra da sadržaj kiseonika u placenti ima važnu ulogu u diferencijaciji i proliferaciji trofoblasta.

Cilj ovog istraživanja je bio da se ispita uticaj hipoksije na oksidativno/antioksidativni status ćelija trofoblasta. U cilju indukovanja hipoksije u medijum za kulturu ćelija dodat je kobalt hlorid (CoCl₂), a tretman je izveden u trajanju od 24h. U eksperimentu je korišćena ćelijska linija mišijih trofoblasta SC4235. Kontrolna grupa ćelija gajena je u čistom medijumu. Nakon tretmana u ćelijama su određivane koncentracije sledećih parametara: vodonik peroksida (H₂O₂), nitrita (NO₂⁻) – indikatora koncentracije NO, redukovanog glutationa (GSH) i oksidovanog glutationa (GSSG).

Rezultati ove studije pokazuju da hipoksija izaziva statistički značajan porast produkcije NO, dok ne utiče na promenu koncentracije H₂O₂, GSH i GSSG u trofoblastima. Očuvana redoks ravnoteža i povećana produkcija NO, koji je važan signalni molekul u ćelijama trofoblasta, ukazuje na značajnu regulatornu ulogu hipoksije u ranim stadijumima placentacije.

P 39

SADRŽAJ *cis*- I *trans*-RESVERATROLA, UKUPNI POLIFENOLI I ANTI-DPPH RADIKALSKA AKTIVNOST ODABRANIH UZORAKA VINA VRANAC

Neda Đorđević¹, Marijana Živković¹, Bojan Radović², Miroslav Novaković¹, Jovana Randelović³, Boris Pejin⁴ i Vele Tešević²

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju - IHTM, Centar za hemiju, Njegoševa 12, 11000 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Katedra za organsku hemiju, Studentski trg 16, 11158 Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Studentski trg 12-16, 11158 Beograd, Srbija;

⁴Univerzitet u Beogradu, Institut za multidisciplinarna istraživanja - IMSI, Odsek za nauke o živim sistemima, Kneza Višeslava 1, 11030 Beograd, Srbija.

Dosadašnje studije biološke aktivnosti resveratrola uglavnom su se odnosile na njegov *trans*-izomer, pri čemu je akcenat stavljan na kardioprotektivni efekat. Naime, broj naučnih publikacija koje za problematiku imaju *cis*-resveratrol značajno je manji i novijeg su datuma. U ovom radu prikazan je sadržaj *cis*- i *trans*-resveratrola kao i njihovih glukozida u devet odabranih uzoraka vina *Vranac* sa područja Crne Gore (berbe 2010 - 2012), kao i procena antioksidativne aktivnosti ovih vina u *in vitro* uslovima.

Sadržaj izomernih oblika resveratrola i njihovih glukozida određen je tečno-masenom hromatografijom, a ukupnih polifenola spektrofotometrijski. Antioksidativni potencijal, izražen kroz anti-DPPH radikalsku aktivnost, takođe je analiziran spektrofotometrijski.

Sadržaj *cis*-resveratrola bio je u opsegu 0.07 - 0.43 mg/L, *trans*-resveratrola 0.22 - 0.74 mg/L, *cis*-resveratrol-glukozida 1,28-3,31 mg/L, *trans*-resveratrol-glukozida 1,40-4,36 mg/L, a ukupnih polifenola 1513 - 2668 mg/L. U svim uzorcima identifikovana su oba izomerna oblika datog prirodnog proizvoda sa međusobnim *trans/cis* odnosom u opsegu 1.20 - 4.47 za slobodne i 0,65-1,96 za glukozilovane. Većina ispitivanih uzoraka pokazala je visoku anti-DPPH radikalsku aktivnost (EC_{50}^{-1} 19.66 - 62.11 %) sa linearnom zavisnošću od sadržaja ukupnih polifenola.

Dati rezultati proistekli su iz studije koja ima cilj da okarakteriše hemijski sastav i bioaktivnost crnogorskih vina i time pruži značajan doprinos kako hemiji hrane, tako i medicinskoj hemiji.

Rad je finansiran sa projekata: 172053, 173040 i III 41005.

P 40

DEGRADACIJA HLOROFILA POD DEJSTVOM VIDLJIVE SVETLOSTI I UVB ZRAČENJA U VODENIM SISTEMIMA *in vitro* I *in situ* - OSVRT NA UČEŠĆE KISEONIČNIH SLOBODNIH RADIKALA

Sanja M. Petrović, Jelena B. Zvezdanović i Dejan Z. Marković

Univerzitet u Nišu, Tehnološki fakultet u Leskovcu, Bulevar Oslobođenja 124, 16000 Leskovac, Srbija.

Hlorofil (Chl) spada u jedno od najvažnijih bio-organskih jedinjenja, pa je ispitivanje njegove stabilnosti prema dejstvu sve aktuelnijeg ultra-violetnog B (UVB) zračenja, od velike važnosti. Hlorofil apsorbuje u UV-VIS spektralnoj oblasti, poznat je fotosenzibilizator, te se njegova stabilnost značajno menja kada se izloži dejstvu VIS (vidljiva svetlost) i UVB zračenja. Degradacija Chl u vodenom medijumu ispitivana je UV-VIS spektrofotometrijski: *in vitro* - kao posledica dejstva VIS i UVB zračenja i *in situ* (u izolovanim fotosintetskim suborganelama, tilakoidima) - kao posledica UVB zračenja, (izmereni fluks, od 12-14 W/m²). Prisustvo kiseoničnih slobodnih radikala u UVB-ozračivanim sistemima utvrđivano je EPR tehnikom, korišćenjem tzv. „hvatača spina“. Izvor Chl *in vitro* i *in situ* su listovi spanaća (*Spinacia oleracea* L).

Rezultati UV-VIS spektrofotometrije pokazuju postepenu degradaciju Chl-a sa porastom perioda ozračivanja. Sa porastom energije zračenja (VIS < UVB), raste procenat degradacije hlorofila - 20,53; 75,81; i 61,38 %, nakon 60 min VIS i UVB-ozračivanja *in vitro*, kao i UVB-ozračivanja *in situ*, respektivno. Produkcija kiseoničnih, hidroksil i superoksid anjon radikala u vodenim suspenzijama tilakoida pod dejstvom UVB-zračenja, potvrđena korišćenjem EPR metode. Zahvaljujući tome što „elektronski tok“ u elektron-transportnom lancu fotosintetskog aparata (u tilakoidima) pod dejstvom UV-zračenja može biti narušen, pojedine njegove komponente su slobodne da učestvuju u jednoelektronskoj redukciji kiseonika do već pomenutog superoksid anjon radikala, koji se dalje može transformisati u ostale reaktivne kiseonične vrste kao što je hidroksil radikal; nezavisno od mehanizma formiranja ovih vrsta, one mogu da „napadaju“ molekule Chl unutar tilakoida. Odsustvo EPR-detekcije slobodnih radikala u rastvorima hlorofila *in vitro* upućuje na moguću dominaciju fotosenzibilizatorske funkcije Chl (pri čemu se kao jedna mogućnost, gradi razorni singletni kiseonik koji povratno - razara Chl). Pod dejstvom UVB ozračivanja, hlorofil je stabilniji *in situ*: uređena organizacija Chl-molekula unutar pigmentno- i metalo- proteinskih kompleksa u tilakoidima predstavlja neku vrstu „zaštite“, u odnosu na neuređenije, „ogoljene“ molekule Chl *in vitro*, u vodenom medijumu.

Rad je finansiran sa projekata: OI-172044 i TR-34012.

P 41

HMGB1 PROTEIN KAO INDIKATOR OŠTEĆENJA JETRE UZROKOVANOG OKSIDATIVNIM STRESOM TOKOM DIJABETESA

Sofija Jovanović, Vesna Martinović, Desanka Bogojević, Svetlana Ivanović Matić, Anja Petrović, Goran Poznanović i Ilijana Grigorov

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

Hipoinsulinemija i hiperglikemija koje nastaju tokom dijabetesa, uzrokuju pojavu metaboličkog i oksidativnog stresa koji dovode do stanja hronične inflamacije, progresivne disfunkcije i oštećenja jetre. Za predikciju i prevenciju pojave dijabetičnih komplikacija u jetri od interesa je identifikacija endogenih molekula koji svojim delovanjem doprinose njenom oštećenju. U tom smislu izdvaja se protein HMGB1. Prvobitno okarakterisan kao DNK-vezujući protein sa ulogom u organizaciji hromatinske strukture, HMGB1 može biti prisutan u ekstraceljskom miljeu gde ima ulogu proinflamatornog citokina i medijatora tkivnih oštećenja. U vanćeljsku sredinu HMGB1 dospeva pasivno iz nekroznih ili oštećenih ćelija ili regulisanom sekrecijom iz ćelija izloženih stresu. U ovom radu ispitivan je uticaj oksidativnog statusa na subćeljsku lokalizaciju i ukupno prisustvo HMGB1 proteina u jetri i serumu pacova sa dijabetesom tipa I i promene nastale nakon tretmana dijabetičnih pacova sa antioksidansom melatoninom.

Dijabetes tipa I uspostavljen je davanjem jednokratne doze streptozotocina (65 mg/kg) pacovima soja Wistar. Tretman kontrolnih i dijabetičnih pacova melatoninom (0.2 mg/kg) započet je tri dana pre indukcije dijabetesa i vršen je svakodnevno tokom 4 nedelje. Dijabetično stanje karakteriše značajan porast koncentracije vodonik peroksida (H_2O_2), i superoksid anjon radikala ($O_2^{\cdot-}$) u serumu, porast lipidne peroksidacije i pad aktivnosti antioksidativnih enzima katalaze, superoksid dismutaza i glutation S transferaze u serumu i jetri. Ovakav oksidativni status prati značajni porast koncentracije alanin aminotransferaze (ALT), pokazatelja oštećenja jetre, za oko 3.2 puta kao i značajan porast nivoa HMGB1 proteina (2.1 put) u serumu i ukupnim homogenatima jetre (2.3 puta). Imunohistohemijski utvrđena je prevashodno citoplazmatska lokalizacija HMGB1 proteina tokom dijabetesa. Bolji oksidativni status uspostavljen tretmanom sa melatoninom dovodi do smanjenja oštećenja jetre što je praćeno značajnim smanjenjem nivoa HMGB1 proteina u serumu i jetri i njegovim zadržavanjem u jedru ćelija jetre.

Dobijeni rezultati ukazuju da prisustvo HMGB1 proteina u serumu korelira sa stepenom oksidativnog stresa i oštećenjem jetre što navodi na zaključak da HMGB1 protein može biti potencijalni prognostički indikator tkivnih oštećenja kao i meta terapeutskog delovanja kojim bi se menjala njegova lokalizovanost i aktivnost, a time i redukovala disfunkcija jetre tokom dijabetesa.

P 42

ULOGA POVIŠENE KONCENTRACIJE SLOBODNIH RADIKALA U REZISTENCIJI NA KARMUSTIN I CISPLATIN KOD PACOVSKIH GLIOMSKIH C6 ĆELIJA

Sonja Stojković, Ana Podolski-Renić, Jelena Dinić, Zorica Milošević, Jasna Banković,
Tijana Stanković, Vedrana Milinković, Nikola Tanić i Milica Pešić

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

Poznato je da tumorske ćelije poseduju adaptivna svojstva koja im omogućavaju da prežive i umnože se u stresnim uslovima nepovoljnim za opstanak normalnih ćelija. Primena hemioterapije može dodatno doprineti većoj otpornosti tj. rezistenciji tumorskih ćelija. U terapiji glioma najčešće se koristi alkilirajući agens 3-bis-(2-hloroetil)-1-nitrozourea (BCNU), poznat i kao karmustin.

U cilju uspostavljanja novog rezistentnog fenotipa, tretirali smo C6 pacovske gliomske ćelije postepeno rastućim koncentracijama BCNU (10 –300 μ M) u toku 9 meseci. Rezistencija na BCNU i cisplatin je utvrđena sulforodamin B testom vijabilnosti, a razlika u ekspresiji apoptotskih gena između polaznog materijala (C6 ćelija) i ćelija kontinuirano tretiranih sa BCNU (RC6 ćelija) analizirana je RT-PCR metodom. Ćelijska smrt pod dejstvom BCNU ispitana je aneksin V/propidijum jodid dvojnim bojenjem na protočnom citometru, dok je stvaranje kiseoničnog anjona detektovano pomoću dihidroetidijuma na protočnom citometru i fluorescentnom mikroskopu.

Prema dobijenim rezultatima, RC6 ćelije poseduju značajan stepen rezistencije i na BCNU i na cisplatin. Razvoj rezistencije je praćen značajnim smanjenjem ekspresije proapoptotskog gena *bad*, kao i efektorske *kaspaze* 3. Koncentracija BCNU efikasna u indukciji apoptoze kod C6 ćelija pokazala se potpuno neefikasnom kod RC6 ćelija. Koncentracija kiseoničnog anjona kod RC6 ćelija značajno je povišena. Tretman sa BCNU i cisplatinom značajno povećava stvaranje kiseoničnog anjona kod C6 ćelija, dok RC6 ćelije ostaju skoro neosetljive na dejstvo 4-5 puta viših koncentracija pomenutih agenasa.

Iz dobijenih rezultata proizilazi da kontinuirani tretman sa BCNU dovodi do promena u osetljivosti na apoptozu, što je dodatno praćeno adaptacijom novodobijenih rezistentnih ćelija na prisustvo kiseoničnog anjona. Ove negativne posledice hemioterapije treba imati u vidu i raditi na razvoju novih terapijskih modaliteta koji bi sprečili povećanje rezistencije ionako teško lečivog oboljenja kao što je gliom.

P 43

AZOT OKSID I cGMP IMAJU SUPROTNU ULOGU U REGULACIJI TESTIKULARNE STEROIDOGENEZE KOD STARIH PACOVA

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

*Univerzitet u Novom Sadu, RES grupa, DBE, Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja
Obradovića 2, 21 000 Novi Sad, Srbija.*

Smanjena funkcionalnost Leydig-ovih ćelija (LC) starih pacova, izražena u smanjenom kapacitetu za produkciju androgena, predstavlja kompleksan fenomen čije molekularne osnove nisu dovoljno razjašnjene. Cilj našeg rada bio je da se ispita doprinos azot oksid-cGMP (NO-cGMP) signalnog puta u smanjenoj funkcionalnosti LC tokom starenja.

Najvažniji rezultati naših istraživanja ukazuju da kod pacova soja *Wistar* starosti od 15 do 24 meseca dolazi do statistički značajnog pada nivoa androgena u LC, testisima i serumu. Pomenuti nizak nivo androgena praćen je povećanom produkcijom NO, cGMP, povećanom ekspresijom solubilne-guanilat ciklaze-1B i protein-kinaze G1 (PKG1) u LC. Nizak nivo cAMP-a detektovan u LC starih životinja verovatno je posledica ubrzane razgradnje usled povišenog nivoa ekspresije cAMP-specifičnih fosfodiesteraza, *Pde4a* i *Pde4b*. Takodje, tokom starenja je zapažen nizak nivo ekspresije steroidogenih gena tj gena odgovornih za transport holesterola u mitohondrije i njegovo prevodjenje do testosterona. Izlaganje LC starog fenotipa (izolovanih od pacova starih 24 meseca) donoru NO je dovelo do povećanja cGMP, smanjenja cAMP i dodatnog smanjenja produkcije androgena. Potpuno suprotni efekti i povećanje produkcije androgena, ustanovljeni su pri izlaganju LC starog fenotipa analogu cGMP (8-Br-cGMP). Takođe, tromesečni i šestomesečni *in vivo* tretman inhibicije fosfodiesteraze 5, sa Sildenafilom (1.25 mg/kg telesne mase/dan), sproveden nad mužjacima pacova starim 12 meseci, doveo je do: usporavanja pada produkcije androgena, normalizovanja nivoa NO, cikličnih nukletida, ekspresije steroidogenih gena i elemenata NO-cGMP signalnog puta.

Iz svega navedenog može se zaključiti da povičen nivo NO u LC starih pacova doprinosi smanjenju steroidogene funkcije ovih ćelija nezavisno od nivoa cGMP. Sa druge strane, povećanje nivoa cGMP u LC značajno usporava pad steroidogene funkcije LC izračen tokom starenja.

Rad je finansiran sa projekata: I173057 i APV02397.

P 44

ANTIOKSIDATIVNI EFEKTI SUPLEMENTACIJE RIBLJIM ULJEM U KRVI PACOVA WISTAR SOJA

Tamara Popović¹, Sunčica Borozan², Jasmina Debeljak Martačić¹, Silvio de Luka³ i
Marija Glibetić¹

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja, Tadeuša Košćuška 1, 11000 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet Veterinarske medicine, Bulevar oslobođenja 18, 11000 Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Medicinski Fakultet, Dr Subotića 8, 11000 Beograd, Srbija.

Riblje ulje u svom sastavu ima dve dugolančane polinezasićene masne kiseline eikozapentaensku (EPA) i dokozaheksaensku (DHA). U sastavu kapsula koje smo u eksperimentu koristile nalazila se i mala doza vitamina E koja ima funkciju u sprečavanju autooksidacije ovih masnih kiselina. Ove masne kiseline ulaze u sastav fosfolipida ćelijskih membrana njihovu fluidnost, funkciju membranskih enzima i receptora. Slobodno radikalske vrste između ostalog mogu nastati u toku procesa lipidne peroksidacije nezasićenih masnih kiselina.

Eksperimenti su izvedeni na Wistar pacovima, mužjacima starim 3 meseca (220g). Životinje su podeljene u dve grupe. Kontrolna grupa (n=10) je primala neograničeno vodu i standardnu laboratorijsku hranu. Tretirana grupa (n=10) primala je riblje ulje u trajanju 6 nedelja (45mg EPA, 30mg DHA, dnevno). Svi parametri u obe grupe mereni su na kraju eksperimenta po žrtvovanju. Parametri oksidativnog stresa u krvi 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 ($p<0.01$) u koncentraciji produkata lipidne peroksidacije (MDA, nmol/gHb; 66.04 ± 7.35 vs 49.93 ± 11.70), značajno smanjenje ($p<0.001$) koncentracije nitrita ($\mu\text{mol/L}$; 63.43 ± 2.76 vs 56.86 ± 3.66), povećanje aktivnosti ($p<0.01$) superoksid dismutaze (SOD) ((IU/L) ; 290.15 ± 18.5 vs 321.15 ± 25.3) kao i aktivnosti katalaze (CAT) ($p<0.05$) (41.66 ± 4.1 vs 48.15 ± 5.73). Nije nadjena statistička značajnost u količini tiolnih grupa (ukupnih) posle tretmana u odnosu na kontrolnu grupu.

Tretman ribljim uljem u trajanju od 6 nedelja u krvi pacova Wistar soja starih 3 meseca imao je antioksidativni efekat, u vidu smanjenja lipidne peroksidacije i koncentracije nitrita. Aktivnost enzima antioksidativne odbrane (SOD, CAT) je povećana tretmanom dok se ukupne tiolne grupe nisu menjale. Tretmanom ribljim uljem došlo je do smanjenja nastanka kako kiseoničnih tako i reaktivnih vrsta azota.

P 45

JEDINJENJE A, SELEKTIVNI AGONIST GLUKOKORTIKOIDNIH RECEPTORA, SUPRIMIRA EKSPERIMENTALNI AUTOIMUNSKI DIJABETES

Tamara Saksida, Ivana Nikolić, Milica Vujičić, Ivana Stojanović i Stanislava Stošić-Grujičić

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

Novi nesteroidni modulator glukokortikoidnih receptora, jedinjenje A (*engl.* Compound A, CpdA), je sintetski analog prekursora hidroksi fenil aziridina poreklom iz afričke žbunaste biljke *Salsola tuberculiformis* Botschantzev. Pošto CpdA poseduje anti-inflamatorna svojstva, cilj ove studije bio je da ispita njegovu potencijalnu aktivnost u farmakološkom modelu T-zavisnog imuno-inflamatornog dijabetesa tipa 1.

Dijabetes tipa 1 indukovan je u miševima C57BL/6 soja višestrukim malim dozama streptozotocina. CpdA je davan 10 puta, počevši od prvog dana indukcije bolesti. Bolest je praćena merenjem nivoa glukoze u krvi, a *ex vivo* analiza produkcije NO (Gris), proliferacije (MTT), produkcije citokina (ELISA) i fenotipizacija ćelija (protočna citofluorimetrija) rađena je 10. dana po indukciji bolesti. Direktno dejstvo CpdA na preživljavanje beta ćelija u prisustvu koktela citotoksičnih citokina (TNF- α +IL-1 β +IFN- γ) ispitano je *in vitro* na RINm5F i INS-1 ćelijskim linijama insulinoma (MTT).

Kratkotrajni profilaktički tretman CpdA trajno sprečava pojavu hiperglikemije. *Ex vivo* analiza u ranoj fazi bolesti (10. dan) tokom aktivacije autoreaktivnih T limfocita pokazala je da CpdA u slezinskim i peritonealnim makrofagima stimuliše produkciju NO, medijatora sa anti-proliferativnim i pro-apoptotskim dejstvima. Sledstveno tome, CpdA suprimira *ex vivo* proliferaciju splenocita i smanjuje celularnost regionalnih (pankreasnih) limfnih čvorova, u kojima se odigrava prezentacija (auto)antigena. Takođe, CpdA smanjuje produkciju reprezentativnih proinflamatornih citokina IFN- γ i IL-17 u perifernim limfnim tkivima, dok potencira produkciju IL-2, neophodnog faktora regulatornih T ćelija. Kao posledica toga, infiltracija inflamatornih (auto-agresivnih) ćelija u pankreas i ekspresija njihovih aktivacionih CD4CD25 markera značajno su smanjene. Medjutim, *in vitro* analiza je pokazala da CpdA, za razliku od kontrolnog prednizolona, nije sačuvao beta ćelije od citotoksičnog dejstva citokina.

Dejstvom na ćelije imunskog sistema CpdA smanjuje produkciju proinflamatornih medijatora (citokina i NO) u perifernim tkivima i time sprečava dalji razvoj autoagresivnih procesa usmerenih ka ćelijama endokrinog pankreasa. Stoga CpdA može imati terapijski značaj u autoimunskom dijabetesu i drugim imuno-inflamatornim bolestima.

Rad je finansiran sa projekta #173013.

P 46

POLIMORFIZAM *GSTO2*Asn142Asp MODIFIKUJE RIZIK ZA NASTANAK SENILNE KATARAKTE

Tanja Radić¹, Vesna Ćorić¹, Miroslav Stamenković^{2,3}, Ivan Senčanić², Marija Plješa-
Ercegovac¹, Marija Matić¹, Tatjana Simić¹ i Ana Savić-Radojević¹

¹Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet, Institut za medicinsku i kliničku biohemiju, Pasterova 2, 11000 Beograd, Srbija;

²Kliničko-bolnički centar Zvezdara, Univerzitetska očna klinika, Dimitrija Tucovića 161, 11000 Beograd, Srbija;

³Univerzitet u Beogradu, Fakultet za specijalnu edukaciju i rehabilitaciju, Visokog Stevana 2, 11000 Beograd, Srbija.

Glutation S-transferaze omega-1 i omega-2 (*GSTO1* i *GSTO2*) pripadaju GST superfamiliji enzima sa jedinstvenim dijapazonom aktivnosti, uključujući i regeneraciju askorbata svojom dehidroaskorbat reduktaznom aktivnošću. Značaj polimorfizama *GSTO1* rs4925 i *GSTO2* rs156697 ispitivan je do sada u neurodegenerativnim bolestima. Uzimajući u obzir da je sočivo oka izloženo kontinuiranoj fotohemijskoj produkciji reaktivnih kiseoničnih vrsta, cilj je bio da se ispita povezanost dva funkcionalna *GSTO* polimorfizma sa rizikom za nastanak senilne katarakte.

Metodom PCR-RFLP (eng. *polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism*) određeni su polimorfizmi: *GSTO1* rs4925 (*Ala140Asp*) i *GSTO2* rs156697 (*Asn142Asp*), kod 100 pacijenata sa senilnom kataraktom i 130 zdravih kontrola.

Prisustvo jednog mutiranog *GSTO1*Asp* ili *GSTO2*Asp* alela ne modulira rizik za nastanak senilne katarakte. Međutim, homozigotni nosioci *GSTO1*Asp/GSTO2*Asp* haplo tipa imaju 3,42 puta veći rizik za nastanak senilne katarakte (95%CI=0,84–13,93; p=0,086). Pušači nosioci bar jednog mutiranog alela *GSTO2*Asp* imaju značajno veći rizik za nastanak senilne katarakte u poređenju sa nepušačima sa *wild type GSTO2*Asn/Asn* genotipom (OR=6,89; 95%CI=1,81–16,21; p=0,005). Takođe, nosioci bar jednog mutiranog alela *GSTO2*Asp* koji su profesionalno izloženi UV zračenju imaju značajno povećan rizik za nastanak senilne katarakte u poređenju sa osobama sa *wild type GSTO2*Asn/Asn* genotipom koje nisu profesionalno izložene UV zračenju (OR=4,10; 95%CI=1,23–13,74; p=0,022). Mutirani *GSTO2*Asp* alel je najzastupljeniji kod pacijenata sa nuklearnim tipom katarakte.

Dobijeni rezultati pokazuju da je mutirani *GSTO2*Asp* genotip povezan sa povećanim rizikom za nastanak senilne katarakte kod pušača i osoba profesionalno izloženih UV zračenju, što može biti posledica neefikasne regeneracije askorbata.

P 47

ULOGA MITOHONDRIJA U FRAGMENTACIJI RANIH *in vitro* HUMANIH EMBRIONA

Vesna Otašević¹, Aleksandra Korać², Milica Vučetić¹, Lela Šurlan³, Ivan Tulić³, Ana Stančić¹, Aleksandra Janković¹, Biljana Buzadžić¹, Ksenija Veličković², Milica Markelić², Igor Golić² i Bato Korać^{1,2}

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Bulevar despota Stefana 142, 11060 Beograd, Srbija;

²Univerzitet u Beogradu, Biološki fakultet, Centar za elektronsku mikroskopiju, Studentski trg 16, 11000 Beograd, Srbija;

³Klinika za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije, Koste Todorovića 26, 11000 Beograd, Srbija.

Vijabilnost i normalan razvoj preimplantacionih embriona u velikoj meri određen je aktivnošću mitohondrija. Saglasno tome, različiti razvojni poremećaji embriona, npr. letalni nivo fragmentacije, mogu biti posledica disfunkcija mitohondrija. Budući da mehanizmi fragmentacije *in vitro* embriona do danas nisu razjašnjeni, sprovedena je studija sa ciljem da se ispita molekulska osnova fragmentacije embriona sa posebnim akcentom na uključenost mitohondrija u ovom procesu.

U tu svrhu, ispitivani su transkripcioni profili faktora koji determinišu funkcionalnost mitohondrija (a) komponente elektron transportnog lanca – kompleks I, citohrom *b*, kompleks IV i ATP sintaza, (b) nivo mitohondrijalne DNK (mtDNK), (c) proteini koji regulišu mitohondrijalnu dinamiku, mitofuzin 1 (Mf1) i Drp1 (*engl.* dynamin related protein 1) u šestoćelijskim nefragmentisanim (kontrola), nisko-fragmentisanim (NF) i visoko-fragmentisanim (VF) humanim embrionima starosti 3 dana. Genska ekspresija enzima koji produkuju superoksid anjon radikal ($O_2^{\cdot-}$) i azot oksid ($\cdot NO$) – NADPH oksidaze i NO sintaze (NOS) je takođe izučavana, uzimajući u obzir uključenost reaktivnih vrsta u fragmentaciji.

Genska ekspresija komponenti kompleksa I i IV kodiranih mitohondrijalnim genomom, citohroma *b* i mtDNK povećana je kod VF embriona u poređenju sa kontrolom i NF embrionima. Kod NF embriona ekspresija svih navedenih molekula je niža u odnosu na kontrolu i VF embrione. Kod VF embriona sniženje Mf1 ekspresije je praćeno povećanjem Drp1 ekspresije. Suprotno, u NF embrionima ekspresija Mf1 je povećana, a Drp1 snižena u odnosu na kontrolu. Povećanje ekspresije endotelijalne NOS je zabeleženo kod oba tipa fragmentisanih embriona, pri čemu je vrednost ekspresije značajno niža kod NF u odnosu na VF embrione.

Rezultati ove studije ukazuju da je tokom ranog razvoja embriona svaka neregularna transkripciona aktivacija komponenti elektron transportnog lanca kodiranih mitohondrijalnim genomom povezana sa fragmentacijom embriona i da mitohondrijalna dinamika korelira sa stepenom fragmentacije. Studija takođe sugeriše na uključenost $\cdot NO$ i $O_2^{\cdot-}$ u fragmentaciji, jasno rasvetljavajući redoks-zavisnost ovog procesa. Generalno, prikazana studija obezbeđuje nova saznanja o ulozi mitohondrija u procesu fragmentacije i ukazuje na nov redoks-senzitivan pristup za kontrolu ovog fenomena.

INDEKS AUTORA

A

Aleksić Vuk	47
Andrić A. Silvana	17, 27, 81
Arsić Aleksandra	40

B

Babić M. Goran	60, 74, 76
Baburski Aleksandar	17, 81
Banković Jasna	59, 80
Baralić Ivana	42
Bašić Jelena	24
Bensing Christian	25
Bjelaković Gordana	18
Bjelić Maja	17, 81
Blažinčić Daria	63
Bogavac-Stanojević Nataša	20, 42
Bogojević Desanka	35, 79
Bojanić Vladmila	61
Borožan Sunčica	82
Bosnić Olivera	66
Bouwmeester Harro	59
Božić Biljana	44
Božić Bojan	44
Brajković Irena	63
Branković Branko	24
Branković Suzana	51, 73
Bulat Zorica	51
Bulatović Mirna	25
Buzadžić Biljana	14, 28, 39, 41, 56, 69, 85

C

Cakić Milorad	65
Cerović Ivana	47
Cvetković Danijela	64, 53, 54, 68, 71
Cvetković Tatjana	18, 24, 33
Cvetković Vladimir	43, 53, 62

Ć

Ćorić Vesna	26, 84
Ćurčić Milena	34, 53, 54, 68, 71

D

de Luka Silvio	82
Debeljak Martačić Jasmina	40, 82
Dinić Jelena	31, 59, 80
Dragičević Dejan	26
Dragojević Ilija	48
Drljača Dragana	17
Dulović Marija	30

Đ

Đorđević Branka	18
-----------------	----

Dorđević Brižita	42
Dorđević Neda	77
Dorđević Z. Nataša	74, 76
Đukić Sanja	58
Đukić Tatjana	26
Đukić-Ćosić Danijela	51
Đurić Dragan	66
Đurić Vanja	33
F	
Fira Đorđe	29
G	
Gavrilović Ljubica	45
Glibetić Marija	82
Gorjanović Ž. Stanislava	50
Grigorov Ilijana	35, 79
Grujić Milanović Jelica	36, 70
H	
Hegediš Aleksandar	50
Horvatić Mladen	50
Hrnčić Dragan	55
I	
Ilić Aleksandra	48
Ilić Dušica	65
Ilić Slobodan	66
Ilić Vesna	40
Isaković Aleksandra	46
Isaković Anđelka	46
Ivanov Milan	36, 70
Ivanović Matić Svetlana	35, 79
J	
Jorgačević Bojan	47
Janjić Marija	17, 27, 81
Janković Aleksandra	14, 28, 39, 41, 56, 69, 85
Jelenković Ankica	76
Jelić-Ivanović Zorana	20, 32, 42
Ješić Vukićević Rada	47
Jevtić Gordana	55
Jevtović-Stoimenov Tatjana	18, 24, 61
Jovanović Maja	30, 46
Jovanović Sofija	35, 80
Jovanović Živko	29
Jovović Đurđica	36, 70
K	
Kaluđerović Goran	25
Kanazir Selma	19
Karaman Ivo	50
Karanović Danijela	36, 70
Kien-Thai Yong	63
Kisić Bojana	48
Kitić Dušanka	49, 52, 72, 73

Knežević S. Veroljub	60
Kocić Gordana	18, 24, 33, 61
Korać Aleksandra	25, 28, 39, 41, 56, 69, 85
Korać Bato	14, 28, 39, 41, 56, 69, 85
Košarić Jelena	68
Kostić Milica	49, 52, 72, 73
Kostić Tatjana	17, 27, 81
Kotur-Stevuljević Jelena	20, 32, 42
Kovačević Nada	52
Krivić Biljana	26
Krstić Aleksandar	39
L	
Lakušić Branislava	52
Liu Qing	59
LJ	
Ljubić Aleksandar	39
Ljubisavljević Srđan	33
M	
Maksimović-Ivanić Danijela	25
Marinković Milena	18, 24
Markelić Milica	28, 39, 41, 56, 69, 85
Marković D. Snežana	34, 43, 44, 53, 54, 64, 68, 71
Marković Ivanka	30
Marković Z. Dejan	77
Martinović Vesna	35, 79
Matić M. Miloš	60, 73, 75
Matić Marija	26, 84
Matović Vesna	51
Mihailović Stanojević Nevena	36, 69
Mijatović Sanja	25
Miladinović Bojana	49, 52, 72, 73
Milanović Sandra	40
Milinković Vedrana	59, 81
Miljković Milica	32
Miloradović Zoran	36, 70
Milosavljević Marijana	67
Milošević Zorica	59, 80
Milutinović Milica	49, 51, 72, 73
Mirić Dijana	48
Misirlić Denčić Sonja	31
Mitrović Dušan	66
Mitrović Tatjana	43, 53
Mladenović Dušan	47, 55
Mladenović M. Jelena	60
Mladenović-Đorđević Aleksandra	19
Mojić Marija	25
Mojović Miloš	50, 63
Momčilović Miljana	25
Mrkonja Aleksandra	30
N	
Najdanović Jelena	62
Najman Stevo	62
Nakarada Đura	50

Nešić Aleksandar 31
Nicoletti Ferdinando 57
Nikolić Ivana 57, 75, 83

Nikolić Ljubiša 65
Nikolić Vesna 65
Ninić Ana 42
Ninković Milica 47, 51
Novaković Miroslav 31, 50, 78

O

Obradović Ana 34, 43, 44
Ognjanović I. Branka 60, 74, 76
Otašević Vesna 14, 28, 39, 41, 56, 69, 85

P

Pajović Mila 69
Pajović B. Snežana 45
Pastor Ferenc 29, 50
Paunović G. Milica 60, 74, 76
Pavlović Dragana 49, 52, 72, 73
Pavlović Dušica 18, 24, 33, 61
Pavlović Ivan 45
Pejić Snežana 45
Pejin Boris 50, 63, 77
Pekmezović Tatjana 26
Perović Milka 19
Pešić Milica 31, 59, 80
Petronijević Nataša 55
Petrović Anja 35, 79
Petrović B. Milica 71
Petrović M. Sanja 77
Plješa-Ercegovac Marija 26, 84
Podolski-Renić Ana 31, 39, 80
Popović Nataša 45
Popović Tamara 82
Poznanović Goran 35, 79
Prokić Vera 47

R

Radenković Jelena 53
Radić Tanja 26, 84
Radosavljević Tatjana 47, 55
Radotić Ksenija 50, 63
Radović Bojan 63, 77
Radović Jelena 61
Radović Svetlana 29
Radulović Ivana 46
Rajković Jelena 62
Rakić Ljubisav 19
Randelović Jovana 63, 77
Rašić Julijana 48
Rašić-Marković Aleksandra 55
Ruždijić Sabera 19

S

Sabo J. Tibor	30
Saičić S. Zorica	60, 74, 76
Saksida Tamara	57, 83
Samardžić Jelena	29
Savić Aleksandar	30, 50, 63
Savić Jasna	67
Savić Vesna	65
Savić-Radojević Ana	26, 84
Senčanić Ivan	83
Simić Tatjana	26, 84
Simić-Ogrizović Sanja	32, 72
Smiljanić Kosara	19
Sokanović J. Srđan	17, 81
Sokolović Dušan	18, 24
Sopić Miron	42
Spasić Slavica	20, 42
Spasojević-Kalimanovska Vesna	19, 42
Srdić Biljana	41
Stamenković Miroslav	84
Stamenković Slaviša	43, 53
Stančić Ana	14, 28, 39, 41, 56, 69, 85
Stanisavljević Milica	62
Stanisavljević Nemanja	29
Stanković Marija	47
Stanković Mihajlo	65
Stanković N. Milena	47
Stanković S. Milan	43, 54, 64, 71
Stanković Tijana	59, 80
Stanojević Goran	24
Stanojević Ljiljana	65
Stanojlović Olivera	55
Stefanović Aleksandra	20, 32, 42, 72
Stojanović Dušica	49
Stojanović Ivana	18, 24, 33, 57, 74, 83
Stojanović Marija	66
Stojanović Sanja	62
Stojanović Svetlana	33
Stojanović Teja	66
Stojiljković Vesna	45
Stojkov Nataša	17, 27, 81
Stojković Milica	66
Stojković Sonja	31, 59, 80
Stojković Tihomir	55
Stošić-Grujičić Stanislava	57, 74, 83
Strahinić Ivana	29
Sukdolak Slobodan	34, 68
Sužnjević Desanka	29, 50

Š

Šavikin Katarina	49, 74
Šćepanović Ljiljana	66
Šćepanović Radomir	66
Šćepanović Vuk	66
Šeklić S. Dragana	43, 53, 54, 64, 69
Šobajić Sladana	58
Šrek Andrija	21

Štajn Š. Andraš	60, 74, 76
Šurlan Lela	85
Šuvakov Sonja	26

T

Tanić Nikola	31, 59, 80
Tešević Vele	50, 77
Timić Jasmina	58
Todorović Ana	45
Topuzović D. Marina	54
Tričković-Vukić Dragana	62
Trišović Nemanja	44
Tulić Ivan	85

U

Ušćumlić Gordana	44
------------------	----

V

Vajić Una-Jovana	36, 70
Vekić Jelena	20, 32
Veličković Ksenija	28, 39, 41, 56, 69, 85
Velimirović Milica	55
Veljković Andrej	24, 61
Vojinović Jelena	61
Vojinović Slobodan	32
Vučetić Milica	14, 28, 39, 41, 56, 69, 85
Vučević Danijela	47
Vučić Vesna	40
Vujičić Milica	57, 74, 83
Vukelić Marija	62
Vukotić Goran	29
Vuković Nenad	34

Z

Zdunić Gordana	72
Zeljković Aleksandra	20, 32
Zlatković Bojan	72
Zvezdanović B. Jelena	78

Ž

Živanov-Čurlis Jelena	62
Živanović N. Marko	53, 54, 68, 71
Živković Jelena	62
Živković Marijana	77
Žižić Jovana	34, 43, 44

Light Microscopes

Confocal Microscopes

Surgical Microscopes

Electron microscope (Sample Preparation)

Microscope Imaging Software

Dijagnostički reagensi * Mikroskopi * Mikrotomi
Oprema za pripremu uzoraka * Potrošni materijal
Imunocitohemija * Molekularna patologija
Flow-citometrija * Klinička imunohemija * Mikrobiologija

Specimen Preparation

- Consumables
- Specimen ID
- Tissue Processing
- Paraffin Embedding
- Sectioning

Routine & Special Staining

- Consumables
- Routine Stainers & Coverslippers
- Routine Stains
- Special Stains

IHC & ISH

- Leica DUV IHC/ISH Instruments
- Novocast Reagents
- Novocast HD

Pathology Imaging

- Applied Pathology
- Clinical Microscopy
- Cytogenetics

Workflow

- Leica OF/IF/NO Specimen Tracking
- Specimen ID

Research

- Neuroscience
- Specimen Preparation
- Routine & Special Staining
- IHC & ISH
- Imaging
- Research Microscopy

Hadzi Milentijeva 34, 11000 Beograd, Srbija, Tel/fax: +381 11 3086988, Fax: +381 11 2433500
e-mail: office@galen-fokus.co.rs, servis@galen-fokus.co.rs

Reagensi, aparati i potrošni materijal za Life Science

R&D
SYSTEMS®

PARTEC

STEMCELL
TECHNOLOGIES

greiner bio-one

Sacace
BIOTECHNOLOGIES

Labnet

Lab Companion

ProMedia se bavi prodajom laboratorijske opreme, reagensa, hemikalija, materijala za kontrolu sterilizacije i potrošnog laboratorijskog materijala za mikrobiološke, biohemijske, citogenetske i PCR laboratorije, kao i laboratorije za kontrolu kvaliteta vode, hrane, lekova i ostale industrijske laboratorije.

ProMedia
Specialists In Laboratory Supplying

POSLOVNI CENTAR KIKINDA
Kralja Petra 1114,
23300 Kikinda
tel/fax : 0230.40.11.50, 0230.40.11.40
office@promedia.rs

POSLOVNI CENTAR ZRENJANIN
Veselina Masišće 1a,
23000 Zrenjanin
tel/fax : 023.580.340, 023.580.722
office_zr@promedia.rs

POSLOVNI CENTAR BEOGRAD
Patrijarha Varnave 48,
11000 Beograd
tel/fax : 011.344.62.09, 011.344.62.03
office_bg@promedia.rs

POSLOVNI CENTAR NIŠ
Episkopska 25/8
18000 Niš
tel/fax : 018.517.180, 018.519.170
office_ni@promedia.rs

www.promedia.rs



Strahinjča Bana 44, Beograd
tel. 3282-986; 3283-866
fax. 3281-205
e-mail: info@uni-chem.rs
www.uni-chem.rs

UNI-CHEM je kompanija osnovana 1996. godine, sertifikovana sistemom kvaliteta ISO 9001:2008, koja se bavi uvozom, prodajom i distribucijom:

- Laboratorijskih hemikalija, potrošnog laboratorijskog materijala i opreme
- Medicinske dijagnostike, opreme i potrošnog materijala
- Lekova
- Farmaceutskih sirovina

KOMPANIJE KOJE ZASTUPAMO:

SIGMA-ALDRICH™

www.sigma-aldrich.com

laboratorijske
hemikalije

Carl Roth GmbH

www.carlroth.com

laboratorijski
potrošni material i
oprema
imunocitometrijski
sistemi
mikrobiološki
program



www.bd.com



www.liofilchem.net

www.isolabgmbh.com

laboratorijski
potrošni material
program za analizu
hrane



www.romerlabs.com

ADVANTEC™

www.advantecmfs.com

program filtracije
farmaceutske
sirovine



www.fagron.com



www.dupont.com

dezinfekcioni
program

The miracles of science™

CIP - Каталогизација у публикацији
Народна библиотека Србије, Београд

576.311.347(048)

57+61(048)

КОНГРЕС Живот са слободним радикалима:
Хемија, Биологија, Медицина (2 ; 2013 ;
Београд)

Књига сажетака / Други Конгрес Живот са
слободним радикалима: Хемија, Биологија,
Медицина, SDMSRF-2013, 28. септембар 2013.,
Ниш, Србија ; [organizatori Српско друштво за
митохондријалну и слободно-радикалску
физиологију ... et al.] ; urednici Bato
Korać, Vesna Otašević. - Београд : Српско
друштво за митохондријалну и
слободно-радикалску физиологију :
Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog
razvoja : Биолошки факултет ; Ниш :
Medicinski fakultet, 2013 (Београд : Alta
nova printing house). - 96 str. ; 25 cm

Тираж 200. - Registar.

ISBN 978-86-912893-2-4 (SDMSRF)

1. Кораћ, Бато [уредник] 2. Српско друштво
за митохондријалну и слободно-радикалску
физиологију (Београд)

а) Митохондрије - Слободни радикали -
Апстрактни б) Биомедицина - Апстрактни
COBISS.SR-ID 201087756

