



Српско друштво за имунологију,
молекулску онкологију и регенеративну медицину
Академија наука и умјетности Републике Српске
Академија медицинских наука Српског лекарског друштва
Медицински факултет у Фочи Универзитета у Источном Сарајеву
Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија
Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

**ПРВИ
СРПСКИ
КОНГРЕС
МОЛЕКУЛСКЕ
МЕДИЦИНЕ
FIRST
SERBIAN
MOLECULAR
MEDICINE
CONGRESS
КЊИГА
САЖЕТАКА
ABSTRACT
BOOK**

**Фоча, 2022
Госа, 2022.**



Српско друштво за имунологију, молекулску онкологију и регенеративну медицину
Академија наука и умјетности Републике Српске
Академија медицинских наука Српског лекарског друштва
Медицински факултет у Фочи Универзитета у Источном Сарајеву
Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија
Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

ПРВИ СРПСКИ КОНГРЕС МОЛЕКУЛСКЕ МЕДИЦИНЕ
FIRST SERBIAN MOLECULAR MEDICINE CONGRESS

Фоча, 16-18. Јун 2022. / June, 16-18. 2022. Foca

**ПРВИ СРПСКИ КОНГРЕС
МОЛЕКУЛСКЕ МЕДИЦИНЕ**

**FIRST SERBIAN MOLECULAR
MEDICINE CONGRESS**

Издавач:
Српско друштво за имунологију, молекулску
онкологију и регенеративну медицину

Publisher:
Serbian Society for Immunology, Molecular Oncology
and Regenerative Medicine

За издавача:
Небојша Арсенијевић

For the publisher:
Nebojsa Arsenijevic

Уредник:
Небојша Арсенијевић

Editor:
Nebojsa Arsenijevic

Штампа:
Српско друштво за имунологију, молекулску
онкологију и регенеративну медицину

The press:
Serbian Society for Immunology, Molecular Oncology
and Regenerative Medicine

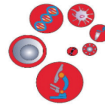
Тираж: 30

Circulation: 30

ISBN-

ISBN-



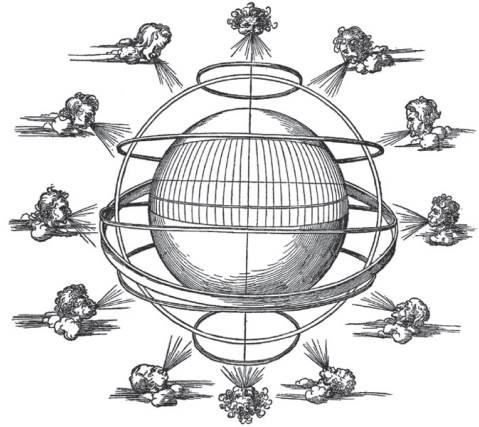


Српско друштво за имунологију, молекулску онкологију и регенеративну медицину
Академија наука и умјетности Републике Српске
Академија медицинских наука Српског лекарског друштва
Медицински факултет у Фочи Универзитета у Источном Сарајеву
Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија
Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

**ПРВИ FIRST
СРПСКИ SERBIAN
КОНГРЕС MOLECULAR
МОЛЕКУЛСКЕ MEDICINE
МЕДИЦИНЕ CONGRESS**

Фоча, 16-18. Јун 2022. / June, 16-18. 2022. Foca

**КЊИГА САЖЕТАКА
ABSTRACT BOOK**



НАУЧНИ ОДБОР

Копредседници:

Рајко Кузмановић
Миодраг Стојковић
Вељко Марић
Данило Војводић
Љубица Ђукановић
Небојша Арсенијевић

Чланови:

Драган Данелишен
Мирко Шошић
Миодраг Чолић
Милан Кулић
Дејан Бокоњић
Радмил Марић
Иван Јовановић
Владислав Воларевић
Никола Танић
Ирена Младеновић
Зора Дајић
Татјана Кањевац
Миа Ракић
Срђан Машић
Сања Мијатовић
Данијела Максимовић
Иванић
Хелена Марић
Ружица Лукић
Александар Арсенијевић
Александар Ацовић

ОРГАНИЗАЦИОНИ ОДБОР

Небојша Арсенијевић
Вељко Марић
Иван Јовановић
Ружица Лукић
Бојана Симовић Марковић
Александар Арсенијевић
Душан Михајловић
Бојана Стојановић
Невена Гајовић
Анђела Петровић
Александар Ацовић
Невена Видојевић
Зорана Марић Остојић
Владимир Марковић
Драган Јокановић
Николина Елез Бурњаковић
Драган Спајић
Вања Пљеваљчић

Реч председника СДИОР-а

Поштоване колеге, Драги пријатељи

Први српски конгрес молекулске медицине одлаган је од пролећа 2020. до данас. Инсценирани и прави планетарни догађаји су претили да ову идеју затрпају страхом и затуре заборавом.

Но искуство нас учи да иза нас остају и нама самима дају смисао само оне идеје и догађаји које смо искрено желели и истрајно остваривали. Нека тако буде и са овим нашим окупљањем у Фочи.

Нека ово не буде први и једини наш конгрес. Било би заиста лепо и важно да се окупљамо периодично баш у Фочи, јер је Медицински факултет у Фочи, визијом и прегалаштвом неколико генерација наставника и руководилаца, давно надрастао стварност не само Фоче и не само Балкана. Они који ће ових дана боравити у овом граду увериће се да је: "начин постојања, рада, дружења, факултетског простора, студентског дома и свега другог сасвим надреалан с обзиром на време и место битисања и далеко надмашује маркетиншке филмске приче о западним школама високог образовања." *

Кањон Таре који ће неки од вас први пут видети очарава својом лепотом и дивљином али, за разлику од Кањона Колорада, не застрашује.

Хоће ли наши дивни домаћини прихватити ову обавезу зависиће само од нас, наше жеље и способности да на местима у којима боравимо оставимо нешто лепо упркос доминантним начелима света у којем живимо која нас нагоне да стално само нешто узимамо и присвајамо.

У то име живели,

Небојша АРСЕНИЈЕВИЋ

* *џаргфрази из мејла једној од учесника Конгреса*

Реч копредседника Научног одбора

Драги пријатељи,

Тешко је сада и овдје у свјест призвати почетак далеких деведесетих година прошлог вијека и у њима ратом захваћену Фочу- како се тада чинило препуштену себи самој и у њој од свих заборављени народ.

Још је теже замислити неколицину занесењака који не спавају, а сањају и на јави конфабулирају о Фочи као сједишту Медицинског и Стоматолошког факултета. Теже нам је било него Јездриним и Немијиним обновитељима Јерусалимског храма јер нисмо имали шта да обновимо већ да установимо нешто што у оваквој средини никад није било нити је могло бити.

Осим снова, на почетак смо имали један војни магацин и сопствену снагу воље. Но, кад је тако онда и помоћ стиже- и то као и увијек с' оне стране Дрине. Не базирајући се на рат сеоским путевима и некатегорисаним беспућима у помоћ долазе професори медицинских факултета из Србије.

Ни ти занесењаци нису могли да се надају да ће ових дана само тридесетак година касније Фоча постати важан центар медицинске науке, образовања и едукације.

Надам се да ће ово прво окупљање истраживача гена, молекула и ћелија постати традиционално и позивамо вас да ту традицију успоставите данас и овдје у Фочи.

Због свега тога вас у име свих који сањају, а не спавају најсрдачније поздрављам!

Академик проф. др Вељко МАРИЋ

П Р О Г Р А М

16.06.2022. (четвртак)

13.00-16.00

СМЕШТАЈ УЧЕСНИКА КОНГРЕСА

Медицински факултет Фоча

15:00-16:30

РЕГИСТРАЦИЈА УЧЕСНИКА

16:30-17:00

ОТВАРАЊЕ СКУПА

Радно председништво:

Дејан Бокоњић, Вељко Марић, Небојша Арсенијевић

17:00-19:00

ПЛЕНАРНА ПРЕДАВАЊА

Радно председништво:

Данијела Максимовић Иванић, Ружица Лукић

17:00-17:30

Миодраг Стојковић:

**Људске индуковане плурипотентне матичне ћелије – алат за разумевање
утицаја загађења животне средине на људско здравље**

17:30-18:00

Владислав Воларевић:

**Терапијски потенцијал мезенхимских матичних ћелија у лечењу
инфламацијских болести јетре**

18:00-18:30

Миодраг Чолић:

Имуномодулацијска својства наночестица злата

18:30-19:00

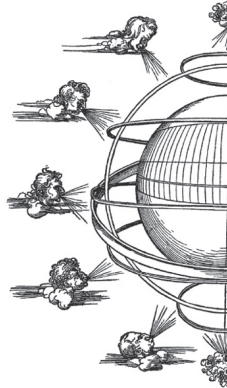
Никола Танић:

**ДНК профилисање у истрживањима рака-
дијагностички и прогностички значај**

Ресторан „Златна дуња“, Фоча

20:00-23:00

СВЕЧАНА ВЕЧЕРА



17.06.2022. (петак)

Медицински факултет Фоча

09:00-10:30 СЕСИЈА 1

Радно председништво:

Владислав Воларевић, Биљана Шмит

09:00-09:15

Наста Танић:

Улога TP53 и PTEN тумор супресор гена у одговору на различите модалитете терапије канцера дојке

09:15-09:30

Милица Недељковић:

Разлике у експресији карбонске анхидразе 9 и 12 у аденокарциному плућа и карциному сквамозних ћелија плућа

09:30-09:45

Бојан Јоксимовић:

Простагландин-Е2 појачава супресивне функције мијелоидних супресорских ћелија индукованих са GM-CSF/IL-6 *in vitro*

09:45-10:00

Александар Ацовић:

Лингва пликата: нови потенцијални знак улцерозног колитиса

10:00-10:15

Сара Ракочевић:

Валпроат испољава имunosупресивно дејство преко активације PPAR- γ у култури хуманих мононуклеарних ћелија

10:15-10:30

Андриана М. Букоњић:

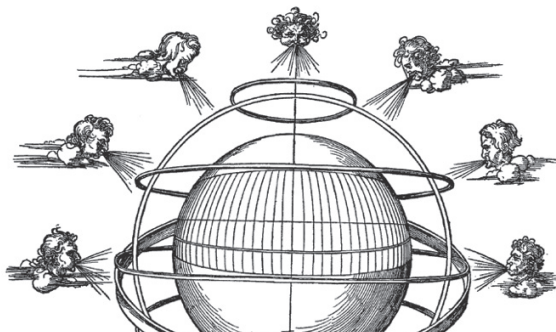
***In silico* и *in vitro* процена биолошке активности комплекса бакра(ii) са s,o-тетраденатним лигандима, дериватима тиосалицилне киселине**

10:30-10:45

Душан Томовић:

Студије везивања сребро(i) комплекса са s-алкил дериватима тиосалицилне киселине за ДНК и БСА

10:45-11:30 Пауза



11:30-12:45 СЕСИЈА 2

Радно председништво:
Сања Мијатовић, Никола Танић

11:30-11:45

Драгана Милорадовић:

Зависност модулације антитуморског имунског одговора од времена примене мезенхимских матичних ћелија у мишјем карциному дојке

11:45-12:00

Драгица Павловић:

Утицај дуванског дима на хепатопротективна својства мезенхимских матичних ћелија

12:00-12:15

Марија Дракул:

Ситаглиптин, ДПП-4 инхибитор, индукује настанак толерогених дендритских ћелија које испољавају ILT-4

12:15-12:30

Наталиа Соловјова:

Утицај централне лимфне дренаже на проценат и број ћелија имунског истема у периферној крви и слезини и њихов фенотип

12:30-13:30

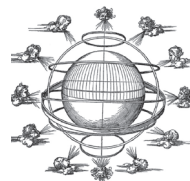
КОКТЕЛ (ШВЕДСКИ СТО)

13:30-16:15

ПЛЕНАРНА ПРЕДАВАЊА

Радно председништво:

Небојша Арсенијевић, Миодраг Чолић, Владислав Воларевић



13:30-14:00

Живка Ери:

Стратегија молекуларног тестирања у немикро-целуларном карциному плућа- улога патолога

14:00-14:30

Зора Дајић Стевановић:

Биљне биоактивне компоненте у третману канцера: мит или нада?

14:30-15:00

Данијела Максимовић-Иванић:

Нова генерација деривата фулерола у репрограму меланома

15:00-15:30

Сања Мијатовић:

**Алтруизам на ћелијском нивоу- семе прогресије тумора
и платформа за излечење**

15:30-16:00

Иван Јовановић:

COVID-19: имунски одговор и тежина болести

16:00-16:15

Пауза

16:15-17:30

СЕСИЈА 3

Радно председништво:

Иван Јовановић, Александар Арсенијевић

16:15-16:30

Невена Гајовић:

Галектин-3 као важан прогностички маркер у COVID-19

16:30-16:45

Марина З. Јовановић:

Аносмија индукована COVID19. Улога интерлеукина-10

16:45-17:00

Ружица Лукић:

**Хепатитис с и параметри инфламацијског одговора код пацијената са
терминалном бубрежном инсуфицијенцијом**

17:00-17:15

Миодраг Јоцић:

**Процена системских вредности цитокина код пацијената са колоректалним
карциномом са и без тромбозе**

17:15-17:30

Душан Лалошевић:

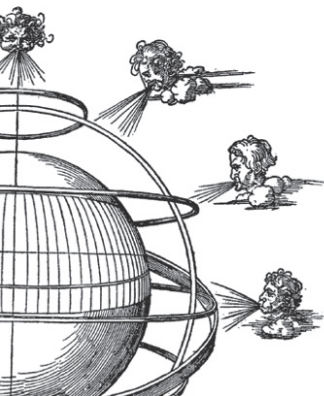
**Неутрализациони тест на беснило на култури ћелија модификован за
одређивање антитела на вирус короне (SARS-CoV-2)**

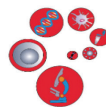
17:30-17:45

ЗАКЉУЧИВАЊЕ КОНГРЕСА

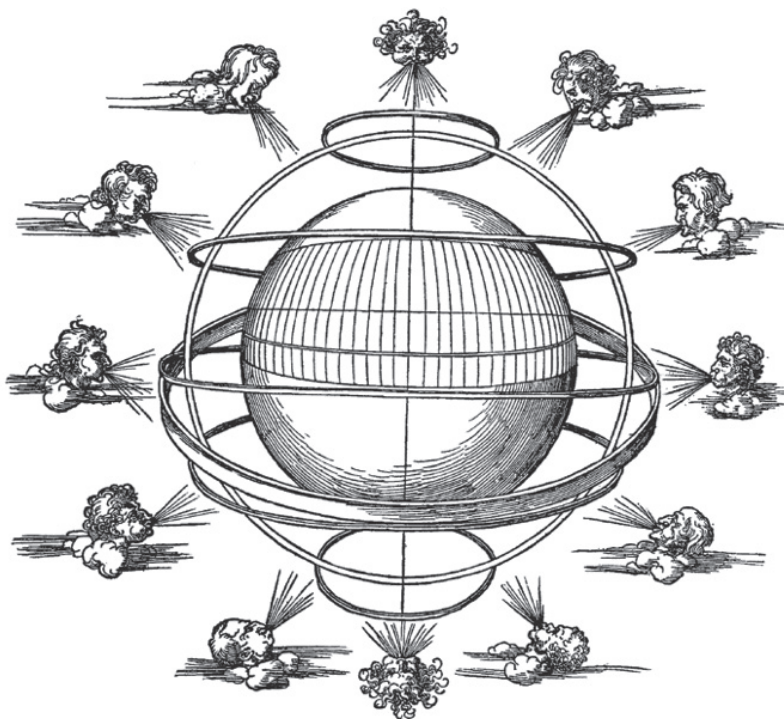
19:00

ОДЛАЗАК У КАМП «ДИВЉА РИЈЕКА»





КЊИГА САЖЕТАКА ABSTRACT BOOK



ЛИНГВА ПЛИКАТА: НОВИ ПОТЕНЦИЈАЛНИ ЗНАК УЛЦЕРОЗНОГ КОЛИТИСА

Александар Ацовић¹, Владислав Воларевић^{2,3}, Бојана Симовић Марковић³, Татјана Кањевац⁴,
Милица Величковић¹, Миа Ракић⁵, Ана Игић⁶, Владимир Ристић¹

¹Каџедра за Сџомаџолоџију Факулџетџи медицинских наука Универзитџетџа у Краџујевицу

²Каџедра за Генетџику, Факулџетџи медицинских наука Универзитџетџа у Краџујевицу

³Центџар за молекулску медицину и истрџживање маџичних ћелија,

Каџедра за Микробиолоџију и имунолоџију, Факулџетџи медицинских наука Универзитџетџа у Краџујевицу

⁴Завод за сџомаџолоџију Краџујевац

⁵Истрџживачка џрупа за еџиолоџију и џераџију џародонџилних обољења,

Мадрџскоџ универзитџетџа Комџлуџенсе, Мадрџд, Шџанија

⁶Каџедра за Превентџивну и деџију сџомаџолоџију, Медицинскоџ факулџетџа, универзитџетџа у Нишу

САЖЕТАК

Улцерозни колитис (УК) је идиопатско, инфламацијско обољење хроничног тока са фазама егзацербације и ремисије. Преовладавају гастроинтестинални симптоми укључујући патолошке манифестације у усној дупљи, као и ванцревне компликације. Лингва пликата (ЛП) је стање које карактерише повећан број фисура и жлебова на централном и бочном делу дорзалне површине језика. ЛП је обично асимптоматска и дијагностикује се случајно, али накупљање хране у фисурама и жлебовима може довести до фокалног глоситиса и халитозе. У овој студији, анализирали смо ниво проинфламацијских цитокина у сулкусној течности (СТ) и показали да су проинфламацијски цитокини IFN- γ , IL-12 и IL-1 β значајно повећани у групи пацијената са УК у поређењу са здравим контролама. Добијени резултати су показали да је код 35% пацијената са УК дијагностикована лингва пликата. Измерене концентрације IFN- γ и IL-12 биле су веће код пацијената са УК са ЛП у поређењу са пацијентима са УЦ без лингве пликате. Повећане вредности IFN- γ и IL-12 измерених у СТ, код пацијената са УК са ЛП могу се сматрати знаком прогресије болести и, последично, лоше прогнозе за пацијента.

Кључне речи: лингва пликата, сулкусна течност, улцерозни колитис

Рад је публикован: Acovic A, Markovic B, Volarevic V, Kanjevac T, Vojvodic D, Velickovic M, Zdravkovic N, Ristic V, Lingua plicata associated with increased level of proinflammatory cytokines in gingival cervical fluid: possible new sign in ulcerative colitis, Serbian Journal of Experimental and Clinical Research. doi: 10.2478/sjcr-2021-0006.

LINGUA PLICATA ASSOCIATED WITH INCREASED LEVEL OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN GINGIVAL CERVICAL FLUID: POSSIBLE NEW SIGN IN ULCERATIVE COLITIS

Aleksandar Acovic A¹, Vladislav Volarevic^{2,3}, Bojana Simovic Markovic³, Tatjana Kanjevac⁴, Milica Velickovic¹, Mia Rakic⁵, Ana Igetic⁶, Vladimir Ristic¹

¹Department of Dentistry, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

²Department of Genetics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

³Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁴Department of Dental Medicine, Kragujevac

⁵ETEP (Etiology and Therapy of Periodontal Diseases) Research Group University Complutense of Madrid, Spain

⁶Department of Preventive and pediatric dentistry, Medical faculty, University of Nis

ABSTRACT

Ulcerative colitis (UC) is a complex disease in which the interaction of genetic, environmental, and microbial factors drives chronic intestinal inflammation. Gastrointestinal symptoms are predominant including pathological manifestations in the oral cavity, as well as extra-intestinal complications. Lingua plicata (LP) is a condition characterized by an increased number of fissures and grooves at the central and lateral aspects of the dorsal surface of the tongue. LP is usually asymptomatic and discovered incidentally, but the accumulation of food in the fissures and grooves can lead to focal glossitis and halitosis. In this study, we analyzed the level of proinflammatory cytokines in gingival crevicular fluid (GCF) and demonstrated that proinflammatory cytokines IFN- γ , IL-12, and IL-1 β were significantly increased in the group of UC patients when compared with healthy controls. Obtained results have shown that 35% of UC patients have lingua plicata. The GCF levels of IFN- γ and IL-12 were higher in UC patients with LP compared with UC patients without lingua plicata. In conclusion, increased GCF values of IFN- γ and IL-12, in UC patients with LP may be considered as a sign of the disease progression and, consequently, of a poor prognosis for patient.

Key words: Lingua plicata, gingival crevicular fluid, ulcerative colitis, oral cavity

The paper is published: Acovic A, Markovic B, Volarevic V, Kanjevac T, Vojvodic D, Velickovic M, Zdravkovic N, Ristic V, Lingua plicata associated with increased level of proinflammatory cytokines in gingival cervical fluid: possible new sign in ulcerative colitis, Serbian Journal of Experimental and Clinical Research. doi: 10.2478/sjcr-2021-0006.

TGF- β И ПАРАМЕТАРИ МЕТАБОЛИЧКОГ СИНДРОМА КОД ПАЦИЈЕНАТА СА СХИЗОФРЕНИЈОМ НА МОНОТЕРАПИЈИ РАЗЛИЧИТИМ АНТИПСИХОТИЦИМА

Александра Корићанац^{1,2}, Бојана Симовић Марковић³, Јелена Пантвић³, Небојша Арсенијевић³, Гордана Д. Радосављевић³, Мирјана Веселиновић^{4,5}, Бранимир Радмановић^{6,7}, Александра Томић Лучић^{4,5}

¹Одељење за интeрну медицину, Општа болница Краљево

²Универзитетски Клинички центар Крајевца, Клиника за интeрну медицину

³Центар за молекулску медицину и истраживање мајичних ћелија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

⁴Капeдра за интeрну медицину, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

⁵Универзитетски Клинички центар Крајевца, Клиника за реуматологију и алерјологију

⁶Капeдра за психијатрију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

⁷Универзитетски Клинички центар Крајевца, Клиника за психијатрију

САЖЕТАК

Схизофренија је тежак психијатријски поремећај са хроничним током. Генетски фактори, фактори окружења и имунски систем су предмет истраживања у патогенези схизофреније. Антипсихотици који се користе у лечењу схизофреније могу узроковати нежељене ефекте. У студији је испитана повезаност системске концентрације TGF- β са параметрима метаболичког синдрома код пацијената на монотерапији различитим антипсихотицима. У истраживање је укључено 60 пацијената оболелих од схизофреније, лечених рисперидоном, клозапином или арипипразолом. Значајно мања концентрација TGF- β детектована је у серуму пацијената на терапији рисперидоном, али не и клозапином и арипипразолом у поређењу са здравим испитаницима. Показана је значајна корелација између концентрације TGF- β и концентрације триглицерида, инсулина и НОМА индекса у групи пацијената на рисперидону, као и инсулина, НОМА индекса и WHR (енгл. waste-to-hip ratio) у групи пацијената на терапији клозапином. Уз то, однос концентрација TGF- β и IL-33 је значајно нижи у групи пацијената на рисперидону у односу на здраве испитанике, као и групе пацијената на клозапину и арипипразолу, док је у групи пацијената на клозапину нижи само у односу на здраву контролу. Однос концентрација TGF- β и TNF- α је значајно нижи у све три групе пацијената на терапији антипсихотицима. Додатно, однос TGF- β /TNF- α је нижи код пацијената на рисперидону у поређењу са групама пацијената на клозапину и арипипразолу. Добијени резултати имплицирају да пацијенти на терапији рисперидоном и клозапином су у односу на арипипразол у већем ризику за развој метаболичког синдрома.

Кључне речи: схизофренија, TGF- β , метаболички синдром, антипсихотици

Истраживање је финансирано средствима: Факултета медицинских наука Универзитета у Крајевцу (JP 09/19).

TGF- β AND METABOLIC SYNDROME PARAMETERS IN PATIENTS WITH SCHIZOPHRENIA ON MONOTHERAPY WITH DIFFERENT ANTIPSYCHOTICS

Aleksandra Korićanac^{1,2}, Bojana Simović Marković³, Jelena Pantić³, Nebojša Arsenijević³, Gordana D. Radosavljević³, Mirjana Veselinović^{4,5}, Branimir Radmanović^{6,7}, Aleksandra Tomić Lučić^{4,5}

¹Department of Internal Medicine, General Hospital Kraljevo

²University Clinical Center Kragujevac, Internal Clinic

³Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁴Department of Internal medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁵University Clinical Center Kragujevac, Clinic for Rheumatology and Allergology

⁶Department of Psychiatry, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁷University Clinical Center Kragujevac, Psychiatry Clinic

ABSTRACT

Schizophrenia is a severe psychiatric disorder with the chronic course. Genetic factors, environmental factors and the immune system are the subjects of research in the pathogenesis of schizophrenia. Antipsychotics used to treat schizophrenia can cause side effects. In this study the association between systemic TGF- β concentration and metabolic syndrome parameters has been analyzed in patients with schizophrenia on monotherapy with different antipsychotics. The study included 60 patients with schizophrenia treated with risperidone, clozapine or aripiprazole. Significantly lower concentrations of TGF- β were detected in patients on risperidone, but not clozapine or aripiprazole treatment compared to healthy subjects. There was the significant correlation between TGF- β and triglycerides and insulin concentration and HOMA index in patients on risperidone, as well as insulin, HOMA index and waist-to-hip ratio (WHR) in patients on clozapine treatment. In addition, the ratio of TGF- β and IL-33 concentrations was significantly lower in patients on risperidone compared to healthy subjects, as well as groups of patients on clozapine or aripiprazole treatment, while in patients on clozapine it was lower only compared to healthy controls. The TGF- β /TNF- α ratio was significantly lower in each group of patients on antipsychotic therapy. In addition, the TGF- β /TNF- α ratio was lower in patients on risperidone compared to patients on clozapine or aripiprazole treatment. The obtained results imply that patients on risperidone and clozapine therapy are at higher risk of developing metabolic syndrome compared to aripiprazole.

Key words: schizophrenia, TGF- β , metabolic syndrome, antipsychotics

Funding: This work was supported by grant the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (JP 09/19).



IN SILICO И IN VITRO ПРОЦЕНА БИОЛОШКЕ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА БАКРА(II) СА S,O-ТЕТРАДЕНТАТНИМ ЛИГАНДИМА, ДЕРИВАТИМА ТИОСАЛИЦИЛНЕ КИСЕЛИНЕ

Ана С. Живановић¹, Гордана П. Радић¹, Андриана М. Букоњић¹, Душан Љ. Томовић¹, Милош В. Николић¹, Марина Ж. Мијајловић¹, Никола В. Недељковић¹, Снежана Јовановић-Стевић², Јована Богојески³, Душан Ђоћић³

¹Каптедра за фармацеутичку хемију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

²Одсек за хемију, Институт за информационе технологије, Универзитет у Крајеву

³Институт за хемију, Природно-математички факултет, Универзитет у Крајеву

САЖЕТАК

Увод: Биогена улога и хемијске карактеристике омогућавају да бакар(II)-јон буде веома значајан централни јон метала у комплексним једињењима. Бакар(II)-јон је због прелазно тврдо-меких карактеристика идеалан за координовање са различитим донорским атомима, а због есенцијалне улоге коју има у организму његова једињења су потенцијално мање токсична. Од лиганата који се могу координовати са бакар(II)-јоном, а који у структури садрже сумпор и кисеоник издваја се тиосалицилна киселина и њени деривати због показаног цитотоксичног потенцијала.

Материјал и методе: Синтетисани су и окарактерисани S,O тетраденатни лиганати, деривати тиосалицилне киселине и комплекси бакра(II) са наведеним лигандима. У циљу прелиминарне процене биолошке активности урађене су *in silico* интеракције са ДНК и хуманим серумским албумином (ХСА), као и нуклеофилне супституционе реакције комплекса са ендогеним лигандима (*L*-метионином, *L*-цистеином и 5'-*GMP*) и *in vitro* интеракције са СТ-ДНК (ДНК тимуса говечета) и ХСА које су процењене помоћу апсорпционе спектроскопске анализе и емисионе флуоресценције.

Резултати: Резултати компјутерског уклапања показали су да се везивање са ХСА дешава у субдомену IIA (место I). Сви комплекси у *in silico* интеракцијама показују веома сличне вредности слободне енергије везивања према оба фрагмента ДНК, што указује на могућност интеркалације или интеракције са малим жлебом. Најбољу интеракцију показује комплекс **K4** који у својој структури садржи дуг алифатични низ који дозвољава бољу флексибилност фенил група која омогућава интеркалације комплекса у молекул ДНК. Супституционе реакције комплекса са *L*-метионином, *L*-цистеином и 5'-*GMP* показују да се супституција одиграва у два узастопна корака која карактеришу константе другог реда. Други корак супституције спорији од првог код свих испитиваних комплекса. Ендогени

лиганди који садрже сумпор, попут *L*-метионина и *L*-цистеина, показали су се као бољи нуклеофили од 5'-GMP који је N-донорски лиганд. Ред реактивности испитиваних комплекса последица је њихове структуре, односно најмања реактивност јавља услед стерних сметњи узрокованих структуром. Додатком ДНК у раствор испитиваних једињења јавља се значајни хиперхромни ефекат са појавом нове траке на 250 nm. Вредности константе K_b указују на снажно везивање свих комплекса са СТ-ДНК, али најбољу интеракцију остварује комплекс **К4**. Интеракција комплекса са молекулом ДНК показује вредности Стерн-Волмерове константе гашења, као и значајно смањење интензитета флуоресценције која је мерена у раствору комплекса и етидијум-бромида. Комплекс **К4** показује и најбољу способност везивања за ХСА.

Кључне речи: S,O-тетраденатни лиганди, комплекси бакра(II), молекулски докинг, кинетичка мерења, интеракције

Рад је публикован: Živanović AS, Bukonjić AM, Jovanović-Stević S, Bogojeski J, Ćočić D, Popović Bijelić A, Ratković ZR, Volarević V, Miloradović D, Tomović DLj, Radić GP. Complexes of Copper(II) with tetradentate S,O-ligands: Synthesis, characterization, DNA/Albumin Interactions, molecular docking simulations and antitumor activity. Journal of Inorganic Biochemistry. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2022.111861; **M21 IF=4,155**

Истраживање је финансирано средствима: Пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије под називом „Синтеза, моделовање, физичко-хемијске и биолошке особине неорганских једињења и одговарајућих комплекса метала” (евиденциони број пројекта-ОИ172016).

IN SILICO AND IN VITRO ASSESMENT OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF COPPER(II) COMPLEXES WITH S,O-TETRADENTATE LIGANDS, DERIVATIVES OF THIOSALICYLIC ACID

Ana S. Živanović¹, Gordana P. Radić¹, Andriana M. Bukonjić¹, Dušan LJ. Tomović¹, Miloš V. Nikolić¹, Marina Ž. Mijajlović¹, Nikola V. Nedeljković¹, Snežana Jovanović- Stević², Jovana Bogojeski³, Dušan Ćoćić³

¹*Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac*

²*University of Kragujevac, Institute for Information Technologies, Department of Science*

³*University of Kragujevac, Faculty of Science*

ABSTRACT

Introduction: The biogenic role and chemical characteristics enable the copper(II) ion to be a very important central ion of the metal in complex compounds. Due to its transient hard-soft characteristics, copper(II) ion is ideal for coordination with various donor atoms, and due to its essential role in the body, its compounds are potentially less toxic. Thiosalicylic acid and its derivatives are isolated from ligands that can be coordinated with copper(II) ions, and which contain sulfur and oxygen in the structure due to the shown cytotoxic potential.

Material and methods: S,O tetradentate ligands, thiosalicylic acid derivatives and copper(II) complexes with the mentioned ligands were synthesized and characterized. In order to preliminarily assess biological activity, in silico interactions with DNA and human serum albumin (HSA), as well as nucleophilic substitution reactions of complexes with endogenous ligands (L-methionine, L-cysteine and 5'-GMP) and in vitro interactions with ST-DNA (bovine thymus DNA) and HSA as assessed by absorption spectroscopic analysis and emission fluorescence.

Results: The results of the computer fit showed that HSA binding occurs in subdomain IIA (site I). All complexes in in silico interactions show very similar values of free binding energy to both DNA fragments, indicating the possibility of intercalation or interaction with a small groove. The best interaction is shown by the K4 complex, which in its structure contains a long aliphatic sequence that allows better flexibility of phenyl groups, which enables intercalation of the complex into DNA molecules. Substitution reactions of the complex with L-methionine, L-cysteine and 5'-GMP show that substitution takes place in two consecutive steps characterized by second-order constants. The second substitution step is slower than the first in all tested complexes. Sulfur-containing endogenous ligands, such as L-methionine and L-cysteine, have been shown to be better nucleophiles than 5'-GMP, which is an N-donor ligand. The order of reactivity of the examined complexes is a consequence of their structure, ie the lowest

reactivity occurs due to steric disturbances caused by the structure. The addition of DNA to the solution of the tested compounds has a significant hyperchromic effect with the appearance of a new band at 250 nm. The values of the K_b constant indicate strong binding of all complexes with CT-DNA, but the best interaction is achieved by the K4 complex. The interaction of the complex with the DNA molecule shows the values of the Stern-Volmer quenching constant, as well as a significant decrease in the fluorescence intensity measured in the solution of the complex and ethidium bromide. The K4 complex also shows the best binding ability to HSA.

Key words: S,O-tetradentate ligands, copper(II) complexes, molecular docking, kinetic measurements, interactions

The paper is published: Živanović AS, Bukonjic AM, Jovanović-Stević S, Bogojeski J, Ćočić D, Popović Bijelić A, Ratković ZR, Volarević V, Miloradović D, Tomović DLj, Radić GP. Complexes of Copper(II) with tetradentate S,O-ligands: Synthesis, characterization, DNA/Albumin Interactions, molecular docking simulations and antitumor activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*. doi:10.1016/j.jinorgbio.2022.111861; **M21 IF=4.155**

Funding: This work was supported by Ministry of Education, Science and Technological Development of Republic of Serbia (Project 172016).

ЦИТОТОКСИЧНА АКТИВНОСТ НОВОСИНТЕТИСАНИХ МОЛЕКУЛСКИХ ХИБРИДА 2-ТИОХИДАНТОИНА СА ДЕРИВАТИМА ЗИНГЕРОНА

Катарина Виријевић¹, Петар Б. Станић¹, Маријана Васић², Горица Цвијановић¹, Биљана Шмит^{1*}

¹Универзитет у Крајеву, Институт за информационе технологије, Крајевац, Србија

²Академија сировковних студија Шумадија, Одсек Крушевац, Крушевац, Србија

САЖЕТАК

Цитотоксична активност новосинтетисаних биолошки активних једињења, тиохидантоинских хибрида деривата зингерона, је испитивана *in vitro* на канцерским ћелијама колона НСТ-116 и здравим ћелијама фибробласта плућа МРС-5. Ефекат синтетизованих једињења на вијабилност ћелија је испитиван МТТ тестом. Што се тиче утицаја на вијабилност здравих МРС-5 ћелија, умерени цитотоксични ефекат је примећен само за ОМе дериват након дужег времена излагања са $IC_{50} = 184,15 \mu M$, што је упоредиво са контролом (5-флуороурацил) са $IC_{50} = 181,71 \mu M$. Цитотоксични потенцијал испитиваних једињења је временски и дозно завистан. Смањење вијабилности ћелија НСТ-116 је постигнуто углавном након 72 сата и то у највећој примењеној концентрацији испитиваних једињења. На основу резултата, ОВи дериват је показао најбољу антипролиферативну активност на ћелијској линији НСТ-116 са $IC_{50} = 209,08 \mu M$ и $IC_{50} = 160,93 \mu M$. 5-Флуороурацил је показао слабији цитотоксични ефекат са $IC_{50} > 250 \mu M$ и $IC_{50} = 181,71 \mu M$. Ово најактивније једињење садржи бутил групу као супституент, па је његова активност вероватно повезана са липофилношћу супституента у структури испитиваног молекула. Приказани резултати указују на потенцијал тестираних једињења као антиканцерогених агенаса без значајне токсичности на здраве ћелијске линије. ОВи дериват који је показао најбољу активност је водећи кандидат у синтетизованој серији. Његова повећана цитотоксичност у поређењу са самим зингероном може се приписати увођењу тиохидантоинског језгра у молекул.

Кључне речи: деривати зингерона, 2-тиохидантоин, цитотоксична активност

Истраживање је финансирано средствима: МПНТР Републике Србије (Број уговора 451-03-68/2022-14/200378).

CYTOTOXIC ACTIVITY OF NEWLY SYNTHESIZED MOLECULAR HYBRIDS OF 2-THIOHYDANTOINS WITH ZINGERONE DERIVATIVES

Katarina Virijević¹, Petar B. Stanić¹, Marijana Vasić², Gorica Cvijanović¹, **Biljana Šmit**^{1*}

¹University of Kragujevac, Institute for Information Technologies, Kragujevac, Serbia

²Academy of Professional Studies Šumadija, Department in Kruševac, Kruševac, Serbia

ABSTRACT

The cytotoxic activity of newly synthesized biologically active compounds, thiohydantoin hybrids of zingerone derivatives, was investigated in vitro on colon cancer cells HCT-116 and healthy lung fibroblast cells MRS-5. The effect of synthesized compounds on cell viability was examined by MTT test. Regarding the effect on viability of healthy MRC-5 cells, a moderate cytotoxic effect was observed only for the OMe derivative after prolonged exposure with $IC_{50} = 184.15 \mu M$, which is comparable to the control (5-fluorouracil) with $IC_{50} = 181.71 \mu M$. The cytotoxic potential of the tested compounds is time and dose dependent. The reduction in HCT-116 cell viability was achieved mainly after 72 hours at the highest applied concentration of test compounds. Based on the results, the OBu derivative showed the best antiproliferative activity on the HCT-116 cell line with $IC_{50} = 209.08 \mu M$ and $IC_{50} = 160.93 \mu M$. 5-Fluorouracil showed a weaker cytotoxic effect with $IC_{50} > 250 \mu M$ and $IC_{50} = 181.71 \mu M$. This most active compound contains a butyl group as a substituent, so its activity is probably related to the lipophilicity of the substituent in the structure of the test molecule. The presented results indicate the potential of the tested compounds as anticancer agents without significant toxicity to healthy cell lines. The OBu derivative that showed the best activity is the leading candidate in the synthesized series. Its increased cytotoxicity compared to zingerone itself can be attributed to the introduction of the thiohydantoin nucleus into the molecule.

Key words: zingerone derivatives, 2-thiohydantoin, cytotoxic activity

Funding: MPNTR of Republic of Serbia (Contract number 451-03-68/2022-14/200378)

ПРОСТАГЛАНДИН-Е2 ПОЈАЧАВА СУПРЕСИВНЕ ФУНКЦИЈЕ МИЈЕЛОИДНИХ СУПРЕСОРСКИХ ЋЕЛИЈА ИНДУКОВАНИХ СА GM-CSF/IL-6 *IN VITRO*

Бојан Јоксимовић¹, Марина Бекић², Милош Васиљевић¹, Маријана Милановић³,
Драгана Вучевић³, Сергеј Томић², Миодраг Чолић¹

¹Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву, Република Српска,
Босна и Херцеговина

²Институт за примену нуклеарне енергије, Београд, Србија

³Медицински факултет Војномедицинске академије, Универзитет одбране, Београд, Србија

САЖЕТАК

Мијелоидне супресорске ћелије (MDSC), откривене као један од главних фактора који покрећу прогресију тумора, такође су укључене у повољне ефекте у аутоимунским болестима, али њихова улога није у потпуности позната. Протоколи за диференцијацију MDSC добијених из хуманих моноцита *in vitro* нису у потпуности успостављени, посебно са аспекта улоге простагландина Е2 (PGE2) у индукцији MDSC *in vivo*. Наши резултати су показали да су GM-CSF и IL-6 неопходни за индукцију CD33+HLA-DR^{low}CD14+CD209-MDSC *in vitro*. Међутим, додавање PGE2 коктелу GM-CSF/IL-6 додатно је повећао експресију CD14 и CCR7 а смањио експресију CD1a, HLA-DR, CD209, CD16, CD11c, CD11b на овим ћелијама. MDSC индуковане у присуству PGE2 испојиле су више нивое CD39, PD1L, ILT-3 и ILT-4, и продуковале су веће концентрације TGF- β и IL-27, и мање концентрације IL-1 β , IL-10, IL-23 и TNF- α након стимулације LPS/IFN- γ , у поређењу са MDSC индукованим са GM-CSF/IL-6. У популацији алореактивних Т ћелија које су култивисане заједно са PGE2 индукованим MDSC било је више CD4+GATA-3+ Т ћелија које продукују IL-4 а мање CD4+ROR γ t+ Т ћелија које продукују IL-17. Такође била је већа заступљеност CD8+ Т ћелија које продукују IFN- γ али не и CD4+IFN- γ + Т ћелија. Интересантан је налаз је да су PGE2-MDSC смањивале проценат алореактивних CD4+CD25^{hi}FoxP3+TGF- β Tregs, али су значајно повећале проценат CD4+IL-10+FoxP3-IL-4- Tr-1 и CD8+IL10+ Т ћелија, у поређењу са MDSC индукованих само у присуству GM-CSF/IL-6. У закључку се може истаћи да PGE2 потенцира супресивни фенотип и функције MDSC индукованих у присуству GM-CSF/IL-6 и мијења механизме укључене у индукцију Tregs, што би могло бити од значаја у развоју стратегија фокусираних на терапијске ефекте MDSC код тумора и аутоимунских болести.

Кључне речи: Простагландин Е2, мијелоидне супресорске ћелије

Рад је публикован: Sergej Tomić, Bojan Joksimović, Marina Bekić, Miloš Vasiljević, Marijana Milanović, Miodrag Čolić, Dragana B Vučević (2019). Prostaglandin-E2 Potentiates the Suppressive Functions of Human Mononuclear Myeloid-Derived Suppressor Cells and Increases Their Capacity to Expand IL-10-Producing Regulatory T Cell Subsets. *Front. Immunol.* 10:475. doi: 10.3389/fimmu.2019.00475 (IF: 5.511).

Истраживање је финансирано средствима: Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву

PROSTAGLANDIN-E2 POTENTIATE THE SUPPRESSIVE FUNCTIONS OF HUMAN GM-CSF/IL-6-INDUCED MYELOID-DERIVED SUPPRESSOR CELLS *IN VITRO*

Bojan Joksimovic¹, Marina Bekic², Miloš Vasiljevic¹, Marijana Milanovic³, Dragana Vucevic³,
Sergej Tomic², Miodrag Colic³

¹Medical Faculty Foca, University of East Sarajevo, Foca, Bosnia and Herzegovina

²Institute for the Application of Nuclear Energy, Belgrade, Serbia

³Medical Faculty of the Military Medical Academy, University of Defense, Belgrade, Serbia

ABSTRACT

Myeloid derived suppressor cells (MDSC), discovered as one of the major factors driving tumor progression, are also involved in beneficial effects during the course of autoimmune diseases, but their role is not fully understood. The protocols for differentiation of human monocyte-derived MDSC *in vitro* have not been fully established, especially considering the immense role of prostaglandin (PG)-E2 in the induction of MDSC *in vivo*. Here we found that GM-CSF and IL-6 were required for the induction of CD33+HLA-DR^{low}CD14+CD209⁻ MDSC *in vitro*. However, the addition of PG-E2 to GM-CSF/IL-6 cocktail up-regulated additionally CD14 and CCR7, and down-regulated the expression of CD1a, HLA-DR, CD209, CD16, CD11c, CD11b on these cells. PG-E2-induced MDSC expressed higher levels of CD39, PD1L, ILT-3 and ILT-4, and produced higher amounts of TGF- β and IL-27, and lower amounts of IL-1 β , IL-10, IL-23 and TNF- α after LPS/IFN- γ stimulation, compared to GM-CSF/IL-6-induced MDSC. Alloreactive T cells co-cultured with PG-E2-induced MDSC contained more IL-4-producing CD4+GATA-3+ T cells, and less IL-17-producing CD4+ ROR γ t+ T cells, as well as IFN- γ -producing CD8+ T cells, but not CD4+IFN- γ + T cells. Interestingly, PG-E2-induced MDSC generated a smaller percentage of alloreactive CD4+CD25^{hi}FoxP3+TGF- β Tregs, but increased significantly the percentage of CD4+IL-10+FoxP3-IL-4- Tr-1 and CD8+IL10+ T cells, compared to GM-CSF/IL-6-induced MDSC. Therefore, PG-E2 potentiate the suppressive phenotype and functions of GM-CSF/IL-6-induced MDSC, and change the mechanisms involved in Treg induction, which could be important in development of therapeutic strategies focused on MDSC-related effects in tumors and autoimmune diseases.

Key words: Prostaglandin-E2, myeloid-derived suppressor cells

The paper is published: Sergej Tomić, Bojan Joksimović, Marina Bekić, Miloš Vasil-

jević, Marijana Milanović, Miodrag Čolić, Dragana B Vučević (2019). Prostaglandin-E2 Potentiates the Suppressive Functions of Human Mononuclear Myeloid-Derived Suppressor Cells and Increases Their Capacity to Expand IL-10-Producing Regulatory T Cell Subsets. *Front. Immunol.* 10:475. doi: 10.3389/fimmu.2019.00475 (IF: 5.511).

Funding: Medical Faculty Foca, University of East Sarajevo

ДЕЛЕЦИЈА ГЕНА ЗА ГАЛЕКТИН-3 ПОСПЕШУЈЕ ИНФИЛТРАЦИЈУ Т ЛИМФОЦИТА И СМАЊУЈЕ ИНФЛАМАЦИЈСКО ОШТЕЋЕЊЕ У АКУТНОМ ПАНКРЕАТИТИСУ

Бојан Стојановић^{1,2}, Милица Димитријевић Стојановић^{1,3}, Бојана Стојановић^{1,4},
Невена Гајовић¹, Милена Јуришевић^{1,5}, Гордана Радосављевић¹, Јелена Пантић¹, Миодраг Лукић¹,
Небојша Арсенијевић¹, Иван Јовановић¹

¹Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија,
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Србија

²Катедра за хирургију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Србија

³Катедра за патолошку анатомију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Србија

⁴Катедра за патолошку физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Србија

⁵Катедра за фармацију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Србија

САЖЕТАК

Увод. Акутни панкреатитис је често инфламацијско обољење у дигестивној патологији које се карактерише комплексним патофизиолошким процесима који започињу интрапанкреатичном активацијом дигестивних ензима што узрокује оштећење ткива панкреаса и локалну активацију про-инфламацијских и анти-инфламацијских одговора и на крају системског инфламацијског одговора. Показано је да Галектин-3 поспешује акутну инфламацију у експерименталном акутном панкреатитису тако што утиче на активацију ћелија урођене имуности, међутим улога овог молекула у активацији ћелија стечене имуности није проучена.

Материјал и методе. Акутни панкреатитис је узрокован подвезивањем билио-панкреатичног дуктуса код „wild-type“ и Галектин-3 дефицијентних C57BL/6 мишева. Одредили смо фенотипске и молекулске карактеристике инфламацијских ћелија, серумске концентрације амилазе, активацију трипсина у паренхиму панкреаса и хистологију плућа и бубрега.

Резултати. Делеција Галектина-3 смањује број CD3+CD49- Т лимфоцита, CD4+ помагачких Т лимфоцита, смањује продукцију про-инфламацијског цитокина, IFN- γ и повећава инфлукс Foxp3+ Т регулаторних лимфоцита и регулаторних CD4+ помагачких Т лимфоцита који продукују IL-10 у инфламираном ткиву панкреаса. Дефицит Галектина-3 смањује тежину акутног панкреатитиса што је праћено мањом серумском концентрацијом амилаза, активацијом трипсина у паренхиму панкреаса, као и мањим оштећењем плућа.

Закључак. Ови налази указују на значајну улогу Галектина-3 у активацији сте-

ченог имунског одговора у акутном панкреатитисом чинећи га атрактивном терапијском метом код пацијената са акутном инфламацијском болешћу панкреаса.

Кључне речи: Акутни панкреатитис, Галектин-3, Регулаторни Т лимфоцити

Истраживање је финансирано средствима: Пројектом Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (број 175069) и јуниор пројектом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, Србија (ЈР 06/15).

DELETION OF GALECTIN-3 PROMOTES INFILTRATION OF REGULATORY T CELLS IN PANCREAS AND DECREASES INFLAMMATORY INJURY IN ACUTE PANCREATITIS

Bojan Stojanovic^{1,2}, Milica Dimitrijevic Stojanovic^{1,3}, Bojana Stojanovic^{1,4}, Nevena Gajovic¹, Milena Jurisevic^{1,5}, Gordana Radosavljevic¹, Jelena Pantic¹, Miodrag L. Lukic¹, Nebojsa Arsenijevic¹, Ivan Jovanovic¹

¹*Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

²*Department of Surgery, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

³*Department of Pathology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

⁴*Department of Pathophysiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

⁵*Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

ABSTRACT

Background. Acute pancreatitis is common inflammatory disease characterized by complex pathophysiology that initiates with intrapancreatic activation of digestive enzymes causing local tissue damage which further drives a complex interaction of host pro-inflammatory and anti-inflammatory processes leading to systemic inflammatory response. In experimental acute pancreatitis, Galectin-3 promotes acute inflammation of pancreatic tissue by affecting activation of innate inflammatory cells, but its role in acquired immunity is unknown.

Methods. Acute pancreatitis was induced by ligation of bile-pancreatic duct in wild-type and Galectin-3 deficient C57BL/6 mice. We determined phenotypic and molecular features of inflammatory cells, serum concentrations of amylase, pancreatic trypsin activity, and lung and kidney pathology.

Results. Galectin-3 deficiency decreased the total number of CD3+CD49- T cells, CD4+ T helper cells, downregulated production of inflammatory cytokine, IFN- γ and increased accumulation of IL-10-producing Foxp3+ T regulatory cells and regulatory CD4+ T cells in pancreata of diseased animals. Deletion of Galectin-3 ameliorates acute pancreatitis characterized by lowering serum amylase concentration and pancreatic trypsin activity, and attenuating of histopathology of lung.

Conclusion. These findings shed light on the role of Galectin-3 in acquired immune response in acute pancreatitis and identify Galectin-3 as an attractive target for investigation of the immunopathogenesis of disease and for consideration as a potential therapeutic target for patients with acute inflammatory disease of pancreas.

Key words: Galectin-3; Acute Pancreatitis; Tregs

Funding: Funding for this work was provided by grants from the Serbian Ministry of Science and Technological Development (175069), Serbia and from the Faculty of medical sciences, Kragujevac (project JP 06/15), Serbia.

ТЕРАПИЈСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ МЕЗЕНХИМСКИХ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА У ЛЕЧЕЊУ ИНФЛАМАЦИЈСКИХ БОЛЕСТИ ЈЕТРЕ

Владислав Воларевић^{1,2}

¹Каџедра за Генетику, Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву

²Центар за молекуларну медицину и израживање матичних ћелија, Каџедра за Микробиологију и имунологију, Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву

САЖЕТАК

Мезенхимске матичне ћелије су адолтне матичне ћелије које модулирају фенотип и функцију свих имунских ћелија које играју важну улогу у патогенези акутних и хроничних инфламацијских болести јетре. Резултати добијени у мишијим моделима акутног хепатитиса и фиброзе јетре показују да се хепатопротективни ефекти мезенхимских матичних ћелија углавном заснивају на њиховом капацитету да производе имунорегулаторне факторе који супримирају производњу инфламацијских и хепатотоксичних цитокина у имунским ћелијама јетре. Мезенхимске матичне ћелије, азот оксидом и кинуренином, супримирају акутни хепатитис мишева тако што редукују експресију молекула којима урођено-убилачке Т ћелије узрокују апоптозу хепатоцита и тако што инхибирају продукцију хепатотоксичних и инфламацијских цитокина (интерферон гама, фактор некрозе тумора алфа, интерлеукин-17) у урођено-убилачким Т ћелијама јетре. Мезенхимске матичне ћелије секретују кинуренин који индукује експанзију имуносупресивних регулаторних Т ћелија. Регулаторне ћелије продукују интерлеукин-10 и стварају имуносупресивно микроокружење у инфламираној јетри, значајно доприносећи регенерацији оштећених хепатоцита. На сличан начин, индуковањем експанзије регулаторних Т ћелија и сузбијањем хроничне инфламације изазване интерлеукином 17, мезенхимске матичне ћелије редукују фиброзу јетре код експерименталних мишева. Након интравенске апликације, мезенхимске матичне ћелије мигрирају у фибротичну јетру где, посредством индоламин 2,3-диоксигеназе и кинуренина, индукују експанзију интерлеукин 10-продукујућих Т регулаторних ћелија и супримирају пролиферацију интерлеукин 17-продукујућих помагачких Т ћелија што резултира смањењем фиброзе у јетри.

Кључне речи: мезенхимске матичне ћелије, имуномодулација, акутни хепатитис, фиброза јетре

Истраживање је публиковано:

1. Harrell CR, Djonov V, Volarevic V. The Cross-Talk between Mesenchymal Stem Cells and Immune Cells in Tissue Repair and Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(5):2472. doi: 10.3390/ijms22052472. **IF=5.924**
2. Gazdic M, Markovic BS, Arsenijevic A, Jovicic N, Acovic A, Harrell CR, Fellabaum C, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, Volarevic V. Crosstalk between mesenchymal stem cells and T regulatory cells is crucially important for the attenuation of acute liver injury. *Liver Transpl.* 2018; 24(5):687-702. doi: 10.1002/lt.25049. **IF=4.159**
3. Gazdic M, Simovic Markovic B, Vucicevic L, Nikolic T, Djonov V, Arsenijevic N, Trajkovic V, Lukic ML, Volarevic V. Mesenchymal stem cells protect from acute liver injury by attenuating hepatotoxicity of liver natural killer T cells in an inducible nitric oxide synthase- and indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent manner. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018; 12(2):e1173-e1185. doi: 10.1002/term.2452. **IF=3.319**
4. Milosavljevic N, Gazdic M, Simovic Markovic B, Arsenijevic A, Nurkovic J, Dolicanin Z, Jovicic N, Jetic I, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, Volarevic V. Mesenchymal stem cells attenuate liver fibrosis by suppressing Th17 cells - an experimental study. *Transpl Int.* 2018; 31(1):102-115. doi: 10.1111/tri.13023. **IF=3.526**
5. Milosavljevic N, Gazdic M, Simovic Markovic B, Arsenijevic A, Nurkovic J, Dolicanin Z, Djonov V, Lukic ML, Volarevic V. Mesenchymal stem cells attenuate acute liver injury by altering ratio between interleukin 17 producing and regulatory natural killer T cells. *Liver Transpl.* 2017; 23(8):1040-1050. doi: 10.1002/lt.24784. **IF=3.756**
6. Gazdic M, Arsenijevic A, Markovic BS, Volarevic A, Dimova I, Djonov V, Arsenijevic N, Stojkovic M, Volarevic V. Mesenchymal Stem Cell-Dependent Modulation of Liver Diseases. *Int J Biol Sci.* 2017; 13(9):1109-1117. doi: 10.7150/ijbs.20240. **IF=4.057**

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ON175069, ON175071) и Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (MP01/18).

THERAPEUTIC POTENTIAL OF MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE TREATMENT OF INFLAMMATORY LIVER DISEASES

Vladislav Volarevic^{1,2}

¹Department of Genetics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

²Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

ABSTRACT

Mesenchymal stem cells (MSCs) are adult stem cells which modulate phenotype and function of all immune cells that play important role in the pathogenesis of acute and chronic inflammatory liver diseases. Results obtained in murine models of acute hepatitis and liver fibrosis show that hepatoprotective effects of MSCs are mainly relied on their capacity to produce immunoregulatory factors that suppress production of inflammatory and hepatotoxic cytokines in liver-infiltrated immune cells. MSCs, in nitric oxide and Kynurenine-dependent manner, attenuate ALF in mice by down-regulating expression of apoptosis-inducing ligands on liver natural killer T (NKT) cells and by inhibiting production of hepatotoxic and inflammatory cytokines (interferon gamma, tumor necrosis factor alpha, interleukin (IL)-17) in liver-infiltrated NKT cells. MSCs, in Kynurenine-dependent manner induce expansion of immunosuppressive, forkhead box P3 (FoxP3)-expressing T regulatory cells that produce IL-10 and create immunosuppressive microenvironment in inflamed livers, crucially contributing to the enhanced regeneration of injured hepatocytes. In similar manner, by inducing expansion of Tregs and by suppressing IL-17-driven chronic inflammation, MSCs attenuate liver fibrosis in experimental mice. After intravenous injection, MSCs engraft in fibrotic livers where, in indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) and Kynurenine-dependent manner, promote expansion of IL-10-producing Tregs and suppress proliferation of IL-17-producing CD4⁺ T cells which result in the attenuation of liver fibrosis.

Key words: MSCs, immunomodulation, acute hepatitis, liver fibrosis

The papers are published:

1. Harrell CR, Djonov V, Volarevic V. The Cross-Talk between Mesenchymal Stem Cells and Immune Cells in Tissue Repair and Regeneration. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(5):2472. doi: 10.3390/ijms22052472. **IF=5.924**
2. Gazdic M, Markovic BS, Arsenijevic A, Jovicic N, Acovic A, Harrell CR, Fellabaum

C, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, Volarevic V. Crosstalk between mesenchymal stem cells and T regulatory cells is crucially important for the attenuation of acute liver injury. *Liver Transpl.* 2018; 24(5):687-702. doi: 10.1002/lt.25049. **IF=4.159**

3. Gazdic M, Simovic Markovic B, Vucicevic L, Nikolic T, Djonov V, Arsenijevic N, Trajkovic V, Lukic ML, Volarevic V. Mesenchymal stem cells protect from acute liver injury by attenuating hepatotoxicity of liver natural killer T cells in an inducible nitric oxide synthase- and indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent manner. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018; 12(2):e1173-e1185. doi: 10.1002/term.2452. **IF=3.319**

4. Milosavljevic N, Gazdic M, Simovic Markovic B, Arsenijevic A, Nurkovic J, Dolicanin Z, Jovicic N, Jeftic I, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, Volarevic V. Mesenchymal stem cells attenuate liver fibrosis by suppressing Th17 cells - an experimental study. *Transpl Int.* 2018; 31(1):102-115. doi: 10.1111/tri.13023. **IF=3.526**

5. Milosavljevic N, Gazdic M, Simovic Markovic B, Arsenijevic A, Nurkovic J, Dolicanin Z, Djonov V, Lukic ML, Volarevic V. Mesenchymal stem cells attenuate acute liver injury by altering ratio between interleukin 17 producing and regulatory natural killer T cells. *Liver Transpl.* 2017; 23(8):1040-1050. doi: 10.1002/lt.24784. **IF=3.756**

6. Gazdic M, Arsenijevic A, Markovic BS, Volarevic A, Dimova I, Djonov V, Arsenijevic N, Stojkovic M, Volarevic V. Mesenchymal Stem Cell-Dependent Modulation of Liver Diseases. *Int J Biol Sci.* 2017; 13(9):1109-1117. doi: 10.7150/ijbs.20240. **IF=4.057**

Funding: The research was funded by Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (ON175069, ON175071) and Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (MP01/18).

НОВА ГЕНЕРАЦИЈА ДЕРИВАТА ФУЛЕРОЛА У РЕПРОГРАМУ МЕЛАНОМА

Данијела Максимовић-Иванић¹, Сања Мијатовић¹, Ђуро Коруга²

¹Одељење за имунологију, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић” Институт од националне значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија

²ТФТ Нано Центар, Београд, Србија

САЖЕТАК

Нанотехнологија, као област истраживања везана за испољавање посебних физичко-хемијских својстава и понашања материјала на нано нивоу, је доживела значајан напредак последњих деценија. Довела је до развоја посебне гране-нано-медицине, где наноматеријали налазе место у превенцији, дијагностици и лечењу различитих болести. Поједине врсте наноматеријала показују веома високу ефикасност у елиминацији туморских ћелија и већ су подвргнуте клиничким испитивањима. Фулерен је трећа алотропска модификација угљеника поред графита и дијаманта. Карактерише га молекуларна кристална структура у форми икосаедра са 12 пентагона и променљивим бројем хексагона. Слаба растворљивост фулерена у поларним растварачима је ограничила потенцијалну примену у биомедицини и послужила као платформа за развој низа једињења са бољом растворљивошћу и значајно побољшаним својствима. Међу њима се свакако издвајају полихидроксиловани фулерени-фулероли чија палета биолошких активности привлачи пажњу бројних истраживача. У нашој студији испитиван је потенцијал деривата фулерола (ЗНФВС) да у садејству са хиперполаризованом светлошћу инхибира раст ћелија меланом, различитог порекла и нивоа инвазивности. Супресија раста ћелија меланом је била последица губитка деобног потенцијала, увођења ћелија у стање сенесценције, односно ћелијског мировања и интензивираних меланоцитне диференцијације. У сингеном мишјем моделу, удруженим деловањем ЗНФВС и хиперполаризоване светлости је значајно инхибиран раст меланом као последица директног деловања на туморске ћелије али и модулације имунског одговора усмереног на/против тумора. Комплексан механизам деловања који обједињује фенотипску трансформацију ћелија меланом и ефекте на имунски систем чини хиперхидроксиловани фулерен вредним даљег истраживања.

Кључне речи: диференцијација, хиперполаризована светлост, меланом, сенесценција, дериват фулерола

Рад је публикован: Milica Markelić, Dijana Drača, Tamara Krajnović, Zorana Jović, Milica Vuksanović, Djuro Koruga, Sanja Mijatović, Danijela Maksimović-Ivanić. Combined Action of Hyper-Harmonized Hydroxylated Fullerene Water Complex and Hyperpolarized Light Leads to Melanoma Cell Reprogramming In Vitro. *Nanomaterials* (Basel). 2022 Apr 13;12(8):1331. doi: 10.3390/nano12081331. **IF 5.076**

Истраживање је финансирано средствима: Програм рада ИБИСС УБ за 2020-2022.годину, Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (451-03-68/2020-14/20007; 451-03-9/2021-14/20007; 451-03-68/2022-14/200007) и Пројекат компаније Zepter International Company (01-646).

NEXT GENERATION OF FULLEROL DERIVATE IN MELANOMA CELL REPROGRAM

Danijela Maksimovic-Ivanic¹, Sanja Mijatovic¹, Djuro Koruga²

¹*Department of Immunology, Institute for Biological Research "Siniša Stanković",
National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

²*TFT Nano Center, Belgrade, Serbia*

ABSTRACT

Nanotechnology, as a field of research related to the manifestation of special physico-chemical properties and behavior of materials in nanoscale, has experienced significant progress in recent decades. It has led to the development of a distinct area - nanomedicine, where nanomaterials find a place in the prevention, monitoring, diagnosis and treatment of various diseases. Some types of nanomaterials show high efficacy in the elimination of tumor cells and have already undergone clinical trials. Fullerene is the third allotropic modification of carbon beside graphite and diamond. It is characterized by an icosahedral molecular crystal structure with 12 pentagons and a variable number of hexagons. The low solubility of fullerenes in polar solvents limited potential applications in biomedicine and served as a platform for the development of a range of compounds with better solubility and significantly improved properties. Among them, polyhydroxylated fullerenes-fullerols stand out; with spectrum of biological activities that attracts the attention of numerous researchers. In our study, the potential of a new fullerol derivate (3HFWC) to inhibit the growth of melanoma cells of different origins and invasiveness, in conjunction with hyperpolarized light, was examined. Suppression of melanoma cell growth was a consequence of the loss of division potential, triggered cellular senescence, and intensified melanocytic differentiation. In the syngeneic mouse model, the combined action of 3HFWC and hyperpolarized light significantly inhibited melanoma growth as a consequence of direct action on tumor cells but also modulation of the pro/anti-tumor immune response. The complex mechanism of action that combines the phenotypic transformation of melanoma cells and the effects on the immune system makes hyper-hydroxylated fullerene worth further research.

Key words: melanoma, fullerol derivate, hyperpolarized light, senescence, differentiation

The paper is published: Milica Markelić, Dijana Drača, Tamara Krajnović, Zorana Jović, Milica Vuksanović, Djuro Koruga, Sanja Mijatović, Danijela Maksimović-Ivanic.

Combined Action of Hyper-Harmonized Hydroxylated Fullerene Water Complex and Hyperpolarized Light Leads to Melanoma Cell Reprogramming In Vitro. *Nanomaterials* (Basel). 2022 Apr 13;12(8):1331. doi: 10.3390/nano12081331. **IF 5.076**

Funding: IBISS UB work program for 2020-2022., the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (451-03-68/2020-14/20007; 451-03-9/2021-14/20007; 451-03-68/2022-14/200007), Zepter International Company (grant number 01-646).

НОВИ АСПЕКТИ ДЕЛОВАЊА СИНТЕТСКОГ ДЕРИВАТА ТУБУЛИЗИНА, ТУБУГИ 1, У МОДЕЛУ МИШЈЕГ МЕЛАНОМА

Дијана Драча¹, Сања Мијатовић¹, Тамара Крајновић¹, Јелена Богдановић Пристов², Татјана Ђукић³, Горан Н. Калуђеровић^{4,5}, Ludger A. Wessjohann⁵, Данијела Максимовић-Иванић¹

¹Одељење за имунологију, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Република Србија

²Одсек за науку о живим системима, Институт за мултидисциплинарна истраживања, Универзитет у Београду, Београд, Република Србија

³Институт за медицинску и клиничку биохемију, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Република Србија

⁴Одељење за инжењерство и природне науке, Универзитет примењених наука, Мерзебург, Немачка

⁵Одељење за биоорганску хемију, Лајбниц институт за биљну биохемију, Хале, Немачка

САЖЕТАК

Тубулизини су природна једињења изолована из родова миксобактерија. Спадају у групу антимицотских агенаса будући да свој антитуморски ефекат остварују на нивоу деобног вретена. У овој студији испитиван је антитуморски потенцијал синтетског аналога тубулизина, тубуги 1, *in vitro* и *in vivo* на моделу мишјег меланом. Тубуги 1 је на дозно-зависан начин смањивао вијабилитет В16 ћелија. Експериментално једињење је у овим ћелијама индуковало атипичну форму апоптотске ћелијске смрти без екстернализације фосфатидилсерина (ПС). Иако је апоптоза била праћена снажном продукцијом реактивних врста кисеоника и азота, смањење садржаја малонилдиалдехида је показало да мембрански липиди нису подлегли оксидацији, што је предуслов за екстернализацију ПС. Иако ПС има кључну улогу у уклањању апоптотских ћелија, ово се није одразило на фагоцитну активност макрофага *in vitro*, указујући на фагоцитозу независну од ПС. Учинак експерименталног агенса је потврђен *in vivo*. Макрофаги изоловани из перитонеалног ексудата третираних животиња показали су цитотоксичну активност, што је у сагласности са показаном експресијом маркера М1 фенотипа и продукцијом азот монооксида. Додатно, фагоцитна способност ових ћелија је била очувана. С обзиром на недостатак података у литератури о деловању овакве групе агенаса на компоненте урођеног имунског система, тубуги 1 остаје вредан даљих испитивања на пољу експерименталне онкологије.

Кључне речи: апоптоза, канцер, фагоцитоза, фосфатидилсерин

Рад је публикован: Drača D, Mijatović S, Krajnović T, Pristov JB, Đukić T, Kaluđerović GN, Wessjohann LA, Maksimović-Ivanić D. The synthetic tubulysin derivative, tubugi-1, improves the innate immune response by macrophage polarization in addition to its direct cytotoxic effects in a murine melanoma model. *Exp Cell Res.* 2019 Jul 15;380(2):159-170. doi: 10.1016/j.yexcr.2019.04.028 (Oblast: Cell Biology 109/195 – 2019. IF 3,383)

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, Лајбниц интитут за биљну биохемију у Халеу и немачке службе за академску размену (ДААД)

NEW ASPECTS OF SYNTHETIC TUBULYSIN DERIVATIVE, TUBUGI 1, ACTION IN MURINE MELANOMA MODEL

Dijana Drača¹, Sanja Mijatović¹, Tamara Krajnović¹, Jelena Bogdanović Pristov², Tatjana Đukić³, Goran N. Kaluđerović^{4,5}, Ludger A. Wessjohann⁵, Danijela Maksimović-Ivanić¹

¹*Department of Immunology, Institute for Biological Research*

“Siniša Stanković” – National Institute of Republic Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

²*Department of Life Sciences, Institute for Multidisciplinary Research, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

³*Institute of Medical and Clinical Biochemistry, Medical Faculty, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

⁴*Department of Engineering and Natural Sciences, University of Applied Sciences Merseburg, Germany*

⁵*Department of Bioorganic Chemistry, Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany*

ABSTRACT

Tubulysins are natural peptide compounds isolated from mycobacterial genera. They belong to the group of antimetabolic agents, since they achieve their antitumor effect disrupting the function of mitotic spindle. The object of this study was to investigate anticancer potential of synthetic analogue of tubulysins, tubugi 1, on mouse melanoma model, *in vitro* and *in vivo*. Tubugi 1 decreased dose-dependently viability of B16 cells. The experimental compound induced atypical apoptosis without the externalization of phosphatidylserines (PS). Although apoptosis was accompanied with strong intracellular production of reactive oxygen and nitrogen species, decrease in malonyldialdehyde content showed that membrane lipids were not subjected to oxidation, what is a prerequisite for the externalization of PS. Although PS plays a key role in the removal of apoptotic cells, this did not affect the phagocytic activity of macrophages *in vitro*, implying PS-independent apoptotic cells removal. The effect of the experimental agent was confirmed *in vivo*. Macrophages isolated from peritoneal exudate of treated animals showed cytotoxic activity, what was in line with demonstrated expression of M1 phenotype markers, as well as production of nitric oxide. Additionally, the phagocytic activity of these cells was preserved. Having in mind lack of data in the literature concerning the effects of this group of agents on components of the innate immune system, tubugi 1 remains worthy of further research in the field of experimental oncology.

Key words: apoptosis, cancer, phagocytosis, phosphatidylserine

The paper is published: Drača D, Mijatović S, Krajnović T, Pristov JB, Đukić T, Kaluđerović GN, Wessjohann LA, Maksimović-Ivanić D. The synthetic tubulysin derivative, tubugi-1, improves the innate immune response by macrophage polarization in addition to its direct cytotoxic effects in a murine melanoma model. *Exp Cell Res.*

2019 Jul 15;380(2):159-170. doi: 10.1016/j.yexcr.2019.04.028 (Oblast: Cell Biology 109/195 – 2019. IF 3,383)

Funding: Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle, and German Academic Exchange Service (DAAD).

СТУДИЈА АКУТНЕ И СУБАКУТНЕ ТОКСИЧНОСТИ СМЕШЕ РАЗЛИЧИТИХ ДИПРОПИЛ ПОЛИСУЛФИДА НАКОН ОРАЛНЕ ПРИМЕНЕ КОД МИШЕВА

Драгана Арсенијевић^{1,2}, Бојана Стојановић^{2,3}, Јелена Миловановић^{2,4}, Александар Арсенијевић², Милош Симић⁵, Марија Пергал⁶, Игор Кодранов⁷, Олга Цветковић⁶, Драган Манојловић^{7,8}, Марија Миловановић², Небојша Арсенијевић²

¹Каџедра за фармацију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Крајевац, Србија

²Факултет медицинских наука, Центар за молекулску медицину и истраживање мајичних ћелија, Универзитет у Крајеву, Крајевац, Србија

³Каџедра за њајолошку физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Крајевац, Србија

⁴Каџедра за хистологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Крајевац, Србија

⁵Центар за нове технологије, Београд, Србија

⁶Институт за хемију, технологију и металургију, Универзитет у Београду, Београд, Србија

⁷Хемијски факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

⁸Каџедра за екологију и хемијску технологију, Универзитет Саут Урал Стейт, Чељадинск, Русија

САЖЕТАК

Биљке рода *Allium*, као што су бели лук, црни лук и празилук, користе се у исхрани и фитотерапији од давнина. Бројна органосумпорна једињења су одговорна за мирис и укус, као и за медицинска својства ових биљака. Када се ткиво ових биљака оштети, сецкањем или жвакањем настају активна једињења. Број атома сумпора у молекулу органосулфида игра кључну улогу у биолошкој активности. Додатак једног атома сумпора значајно повећава јачину њихове антимикуробне, антиоксидативне и антитуморске активности. У овој студији смо испитивали потенцијалне токсичне ефекте оралне примене смеше дипропил полисулфида, који у својој структури имају од 2 до 11 атома сумпора. Користећи принципе OECD Guidelines, испитивали смо акутну токсичност након оралне примене једне дозе испитиване супстанце, коришћењем максималне дозе 2000 mg/kg. Промене у понашању мишева, знаци токсичности или потенцијална смрт су свакодневно праћени наредних 21 дан. У студији субакутне токсичности смеша дипропил полисулфида је примењена орално у дозама 50 и 150 mg/kg дневно 27 дана, C57BL/6 мишевима. Изабрани биохемијски и хематолошки параметри су испитани на крају експеримента. Није било смртности мишева који су примили испитивану смешу у дози 300, 600 и 1500 mg/kg телесне тежине. Дозе 300 и 600 mg/kg тт нису код мишева изазвале симптоме нежељених ефеката. Забележена је смртност код 40 % мишева који су примили дозу 2000 mg/kg смеше DPPS, указујући на то да је средња летална доза већа од 2000 mg/kg, што сврстава смешу DPPS у категори-

ју 5, по критеријумима Глобално усаглашеног система класификације (Globally Harmonized Classification System) и обележавања супстанци. Примена свих доза смеше DPPS током испитивања субакутне токсичности није изазвала симптоме токсичности или смртност мишева. Хематолошки параметри (WBC, LYM, NEU, MON, EOS, BAS, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, MPV, PLT, PDW и PCT) мишева третираних смешом DPPS (50 и 150 mg) нису се разликовали од параметара контролне групе. Такође, биохемијске анализе серума (Glu, Chol, AST, ALT, ALP, укупни билирубин, уреа, креатинин, Са, Р, TP, ALB, глобулин, амилазе, СК) нису показале статистички значајну разлику мишева третираних смешом DPPS и контролне групе. Наши резултати указују на ниску акутну токсичност смеше DPPS.

Кључне речи: дипропил полисулфиди, акутна токсичност, субакутна токсичност, мишеви

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ОИ175069, ОН172018) и Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (JP 22/19).

ACUTE AND SUBACUTE TOXICITY STUDIE OF THE MIXTURE OF DIFFERENT DIPROPYL POLYSUFIDES BY ORAL ADMINISTRATION IN MICE

Dragana Arsenijevic^{1,2}, Bojana Stojanovic^{2,3}, Jelena Milovanovic^{2,4}, Aleksandar Arsenijevic²,
Milos Simic⁵, Marija Pergal⁶, Igor Kodranov⁷, Olga Cvetkovic⁶,
Dragan Manojlovic^{7,8}, Marija Milovanovic², Nebojsa Arsenijevic²

¹*Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia;*

²*Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences,
University of Kragujevac, Serbia*

³*Department of Pathophysiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

⁴*Department of Histology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

⁵*Center for New Technologies, Serbia*

⁶*Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy-National Institute of the Republic of Serbia,
University of Belgrade, Serbia*

⁷*Faculty of Chemistry, University of Belgrade, Serbia*

⁸*Department for Ecology and Chemical Technology, South Ural State University, Chelyabinsk, Russia*

ABSTRACT

Plants of the genus *Allium*, such as garlic, onion and leek, are used in nutrition, folk medicine and phytotherapy. Most of their biological effects are attributed to organo-sulfur compounds, which are formed when the tissue of these plants is damaged by chopping or chewing. The number of sulfur atoms in the organosulfide molecule plays a key role in biological activity. The addition of one sulfur atom significantly increases the strength of their antimicrobial, antioxidant and antitumor activity. In this study, we examined potential toxicity of a mixture of dipropyl polysulfide, which has 2 to 11 sulfur atoms in its structure. The single-dose acute oral toxicity was determined according to the principles of OECD Guidelines, using the limit dose of 2000 mg/kg. The mice were observed once daily up to 21 days for behavioral changes and signs of toxicity and/or death. In the subacute study, the mixture of dipropyl polysulfides was administered orally at doses of 50 and 150 mg/kg daily for 27 days to C57BL/6 mice. Selected biochemical and hematological parameters were determined at the end of the experiment. There was no death among the animals that received 300, 600 and 1500 mg/kg body weight mixture of DPPS. The oral doses of 300 and 600 mg/kg bw did not cause any signs of obvious behavioral and physical adverse effects. 40% The death was recorded in 40% of animals that received 2000 mg/kg of DPPS indicating that the median lethal dose is greater than 2000 mg/kg, allowing classification of the oral toxicity of DPPS as category 5 using the globally harmonized system of classification and labelling of chemicals. Dipropyl polysulfides at all the doses used in subacute toxicity study did not produce any obvious symptoms of toxicity or mortality in all the treated mice. The

analysis of hematological parameters, which included WBC, LYM, NEU, MON, EOS, BAS, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, MPV, PLT, PDW and PCT in mice treated with mixture of DPPS (50 and 150 mg) did not differ significantly from those of control mice. No statistically significant difference was observed in the serum biochemical data (Glu, Chol, AST, ALT, ALP, total bil, urea, creatinine, Ca, P, TP, ALB, globulin, amylase, CK) of mice treated with mixture of DPPS compared with control mice. Our results indicate low acute toxicity of the mixture of DPPS.

Key words: Dipropil polysulfides, acute toxicity, subacute toxicity, mouse

Funding: The research was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (OI175069, ON172018) and the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac (JP 22/19).

ЗАВИСНОСТ МОДУЛАЦИЈЕ АНТИТУМОРСКОГ ИМУНСКОГ ОДГОВОРА ОД ВРЕМЕНА ПРИМЕНЕ МЕЗЕНХИМСКИХ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА У МИШЈЕМ КАРЦИНОМУ ДОЈКЕ

Драгана Милорадовић¹, Драгица Павловић¹, Небојша Арсенијевић², Владислав Воларевић^{1,2}

¹Катедра за генетику, Факултет медицинских наука, Универзитета у Крајеву

²Центар за молекуларну медицину и истраживање мајичних ћелија, Факултет медицинских наука, Универзитета у Крајеву

САЖЕТАК

Мезенхимске матичне ћелије (енгл. *Mesenchymal Stem Cells*- MSCs) су адултне, мултипотентне матичне ћелије које након системске примене инфилтришу туморску микрооколину и учествују у модулацији антитуморског имунског одговора.

MSCs су интраперитонеално апликоване мишевима алтернативно 24 сата и 14 дана након имплантирања 4Т1 туморских ћелија. Анализиран је раст тумора, промена телесне тежине и преживљавање мишева. Фенотип тумор-инфилтришућих имунских ћелија је одређен проточном цитометријом, а промене у концентрацији цитокина су мерене имуноензимским есејом.

MSCs које су апликоване 24 сата након индукције тумора значајно су побољшале антитуморски имунски одговор посредован NK (енгл. *natural killer*, NK), дендритским ћелијама DCs (енгл. *dendritic cells*, DCs) и Т ћелијама, смањиле раст тумора и побољшале преживљавање.

Значајно виши нивои антитуморских цитокина (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6 и IL-17), значајно нижи нивои имunosупресивних цитокина (TGF- β и IL-10) у серуму и значајно већи број тумор инфилтришућих CD178+ NK ћелија које продукују IFN- γ , затим CD11c+CD80+, CD11c+CD86+, као и CD11c+I-A+ и CD11c+I-A+ DCs које продукују TNF- α , затим CD4+Th1 ћелија које продукују IFN- γ и CD178+, као и Granzyme B+ CD8+ цитотоксичних Т лимфоцита (енгл. *cytotoxic T lymphocytes*, CTLs) уочени су у међу животињама које су примиле MSCs 24 сата након апликације малигнућих ћелија.

Међутим, MSCs апликоване 14 дана након индукције карцинома дојке, поспешиле су раст тумора супресијом NK ћелија које продукују IFN- γ . Значајно већа концентрација имunosупресивног TGF- β уочена је у серумима мишева који су примиле MSCs 14 дана након апликације туморских ћелија.

MSCs дате током почетне фазе развоја тумора подстакле су антитуморске имунски одговор и успориле раст тумора, док су MSCs апликоване током прогресивне фазе развоја тумора инхибирале анти-туморску имуност и поспешиле раст тумора.

Кључне речи: MSCs, 4T1, карцином дојке

Истраживање је финансирано средствима: Пројекта Европске организације за Крон и колитис (ЕЦЦО) (грант „Улога галектина 3 у акутном колитису”), ЕЦЛАТ, пројектом Универзитета у Катанији (реплика грант), Швајцарском националном научном фондацијом (ИЗСЕ30 185546), пројектима Министарства просвете науке и технолошког развоја Републике Србије (ОН175069 и ОН175103), пројектом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (МП01/18).

THE EFFECTS OF MESENCHYMAL STEM CELLS ON IMMUNE RESPONSE AGAINST BREAST CANCER DEPEND ON THE TIMING OF THEIR ADMINISTRATION

Dragana Miloradovic¹, Dragica Pavlovic¹, Nebojsa Arsenijevic², Vladislav Volarevic^{1,2}

¹Department of Genetics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

²Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

ABSTRACT

Mesenchymal stem cells (MSCs) are able to modulate antitumor immune response. In this study, we examined MSC-based regulation of anti-tumor immunity against breast cancer. BALB/C mice were intraperitoneally administered with MSCs 24 hours (MSC^{1d}) or 14 days (MSC^{14d}) following the implantation of 4T1 murine mammary carcinoma cells. MSC^{1d} significantly enhanced natural killer (NK), dendritic cells (DCs), and T cell-driven antitumor immunity, suppressed tumor growth, and improved survival of breast-cancer bearing mice. Significantly higher serum levels of antitumor cytokines (TNF- α , IFN- γ , IL-6, and IL-17), significantly lower serum levels of immunosuppressive cytokines (TGF- β and IL-10) and significantly higher levels of tumor-infiltrating IFN- γ -producing CD178+NK cells, CD80-, CD86-, and I-A-expressing, TNF- α -producing DCs, IFN- γ -producing CD4+Th1 cells, and CD178- and Granzyme B-expressing CD8+cytotoxic T lymphocytes (CTLs) were observed in 4T1+MSC^{1d}-treated mice. On the contrary, MSC^{14d} promoted tumor growth by reducing tumoricidal capacity of IFN- γ producing NK cells. Significantly higher sera levels of immunosuppressive TGF- β were observed in 4T1+MSC^{14d}-treated animals, indicating MSC^{14d}-dependent suppression of anti-tumor immunity. In summing up, our results suggest that The effects of mesenchymal stem cells on immune response against breast cancer depend on the timing of their administration. MSCs transplanted during the initial phase of tumor development stimulated antitumor immune response and inhibited tumor growth, whereas MSCs administered during the advanced phase of tumor formation suppressed antitumor immunity and enhanced expansion of breast cancer.

Key words: MSCs, 4T1, breast cancer

Funding: This research was supported by the European Organization for Crohn's and Colitis (ECCO) project (grant "The role of galectin 3 in acute colitis"), ECLAT, the University of Catania project (replica grant), the Swiss National Science Foundation (IZSEZ0 185546), projects of the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (ON175069 and ON17503), and projects of the Faculty of Medicine, University of Krakow.

УТИЦАЈ ДУВАНСКОГ ДИМА НА ХЕПАТОПРОТЕКТИВНА СВОЈСТВА МЕЗЕНХИМСКИХ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА

Драгица Павловић¹, Драгана Милорадовић¹, Александар Арсенијевић², Александар Илић², Владислав Воларевић^{1,2}

¹Катедра за физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу

²Центар за молекуларну медицину и истраживање матичних ћелија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу

САЖЕТАК

Мезенхимске матичне ћелије (енгл. *Mesenchymal Stem Cells*, MSCs) су имунорегулаторне ћелије са капацитетом да супримирају инфламацију и промовишу регенерацију оштећене јетре. Дувански дим има штетан ефекат на пролиферацију и диференцијацију MSCs. У циљу испитивања утицаја дуванског дима на хепатопротективна својства MSCs, изложили смо MSCs дуванском диму у трајању од 48h. MSCs изложене дуванском диму су показале смањен капацитет да продукују имуносупресивне цитокине: IL-10, TGF- β , HGF, NO и кинуренин, као и повећан капацитет да продукују проинфламацијске цитокине: IL-6, IFN- γ , TNF- α , IL-17. *In vitro*, дувански дим је смањио капацитет MSCs да делују имуносупресивно на Т лимфоците и NKT ћелије, главне ефекторске ћелије у инфламацијским болестима јетре. Користили смо модел фулминантног хепатитиса (алфагалактоцерамид (α -GalCer)-индукованог хепатитиса) како бисмо испитивали утицај дуванског дима на хепатопротективна својства MSCs *in vivo*. Непосредно након примене α -GalCer-a, мишеви који су примили α -GalCer су били насумично подељени у експерименталне групе које ће примити физиолошки раствор, MSCs, или MSCs које су инкубиране 48h у надимљеном медијуму. Мишеви су жртвовани 16 h касније, и крв је узета за анализу серумских трансминаза, патохистолошку анализу јетре и проточну цитометрију инфилтришућих Т лимфоцита и NKT ћелија јетре. Статистички значајно повећано оштећење јетре, виши нивои трансминаза и инфламацијских цитокина су били у групи мишева који су примили α -GalCer и MSCs изложене дуванском диму у поређењу са мишевима који су примили α -GalCer и MSCs које су култивисане у стандардним условима. Ћелијски миље јетри је показао да дувански дим смањује капацитет MSCs да супримирају продукцију инфламацијских и хепатотоксичних цитокина хепатичних Т лимфоцита и NKT ћелија, што указује на то да дувански дим смањује имуномодулаторна и хепатопротективна својства MSCs.

Кључне речи: MSCs, дувански дим, имуномодулација, акутно оштећење јетре

Истраживање је финансирано средствима: ECLAT пројекта, Универзитета у Катанији (реплика гранта), и пројекта Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (МП01/18).

THE IMPACT OF CIGARETTE SMOKE ON THE HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES OF MESENCHYMAL STEM CELLS

Dragica Pavlović¹, Dragana Miloradović¹, Aleksandar Arsenijević², Aleksandar Ilić²,
Vladislav Volarević^{1,2}

¹Department of Genetics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

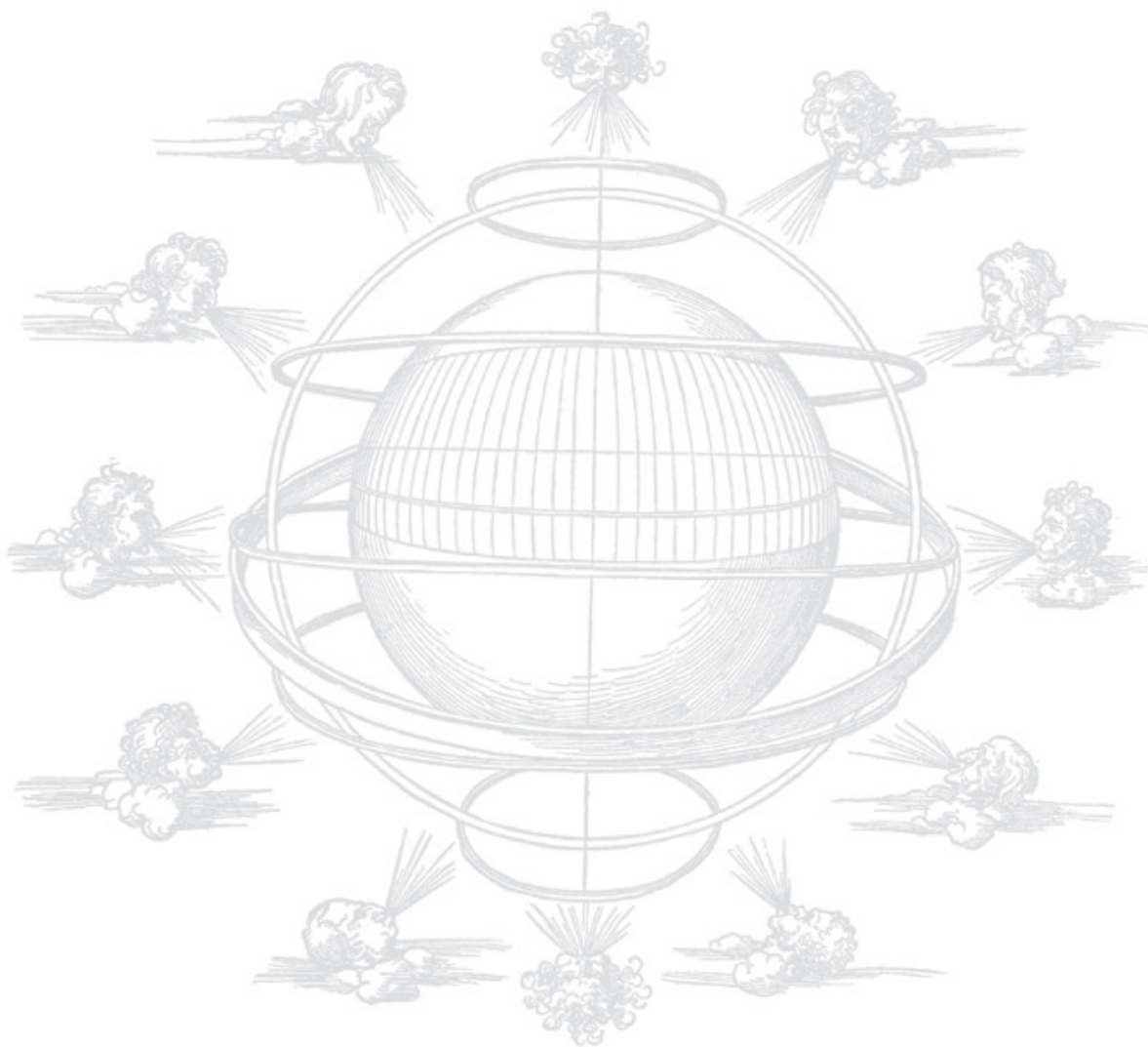
²Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac,
Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

ABSTRACT

Mesenchymal stem cells (MSCs) are immunoregulatory cells which are able to suppress inflammation and to promote repair and regeneration of injured liver. Cigarette smoke has detrimental impact on MSC proliferation and differentiation. In order to analyze an impact of cigarette smoke on hepatoprotective capabilities of MSCs, we exposed MSCs to cigarette smoke for 48 hours. MSCs exposed to cigarette smoke had lower levels of immunosuppressive factors (IL-10, TGF- β , HGF, NO, and kynurenine), but higher levels of pro-inflammatory cytokines (IL-6, IFN- γ , TNF- α , and IL-17). *In vitro*, cigarette smoke reduced MSCs' ability to act immunosuppressively on T lymphocytes and NKT cells, the main effector cells in inflammatory liver diseases. We used mouse model of fulminant hepatitis (alphagalactoceramide (α -GalCer)-induced hepatitis) to analyze an impact of cigarette smoke on MSCs' hepatoprotective properties *in vivo*. Immediately after α -GalCer administration, α -GalCer-treated mice were randomly divided in experimental groups to receive saline, MSCs or MSCs that had been cultured for 48 h in a medium previously exposed to cigarette smoke. Mice were euthanized 16 hours later, and blood was taken for serum transaminases assessment, pathohistological analysis of the liver, and flow cytometry analysis of liver-infiltrated T lymphocytes and NKT cells. An increased hepatocyte damage, higher serum levels of liver enzymes and inflammatory cytokines were observed in the samples of α -GalCer-treated mice that received MSCs exposed to cigarette smoke compared to the α -GalCer-treated animals that received MSCs which grew under standard conditions. Cellular-make up of the livers showed that cigarette smoke attenuated capacity of MSCs to suppress production of inflammatory and hepatotoxic cytokines in liver T and NKT cells, suggesting that cigarette smoke alleviated immunomodulatory and hepatoprotective properties of MSCs.

Key words: MSCs, cigarette smoke, immunomodulation, acute liver damage

Funding: The research was funded by the ECLAT project, the University of Catania project (replica grant), and the project of the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (MP01/18).



ЦИТОТОКСИЧНОСТ КОМПЛЕКСА ПЛАТИНЕ(IV) У МИШЈЕМ МОДЕЛУ ХРОНИЧНЕ ЛИМФОЦИТНЕ ЛЕУКЕМИЈЕ

Жана Бесер Силкони^{1,2}, Саша Беназић^{1,3}, Жељко Тодоровић^{1,4}, Драгана Арсенијевић^{1,5},
Бојана Стојановић^{1,6}, Гордана Радосављевић¹, Јелена Пантић¹, Александар Арсенијевић¹,
Јелена Миловановић^{1,7}, Небојша Арсенијевић¹, Марија Миловановић¹

¹Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

²Одељење циџологије, Ошћа болница, Пула, Хрватска

³Одељење трансфузиологије, Ошћа болница, Пула, Хрватска

⁴Каџедра за инџерну медицину, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁵Каџедра за фармаџију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁶Каџедра за џаџиолошку физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁷Каџедра за хистологију и ембриологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

САЖЕТАК

Лечење пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом често је ограничено због веома брзог развоја резистенције на стандардне хемотерапеутике. Циљ овог рада био је да се испита потенцијални антитуморски ефекат нових комплекса платине са дериватима алкил тиосалицилне киселине на ћелије хроничне лимфоцитне леукемије мишева, BCL1, и да се испита могући механизам деловања ових комплекса. Комплекс са најјачом активношћу, PtCl₂(C-pr-thiosal)₂, смањив је вијабилност BCL1 ћелија *in vitro* и смањив раст метастаза у BCL1 моделу мише леукемије. Комплекс PtCl₂(C-pr-thiosal)₂ је утицао на релативни однос Bcl-2 и Вах протеина и индуковао апоптозу BCL1 ћелија зависну од каспазе, инхибирао пролиферацију ових ћелија и индуковао поремећај ћелијског циклуса. Третман BCL1 ћелија комплексом PtCl₂(C-pr-thiosal)₂ инхибирао је експресију циклина Е и циклина D3, повећао експресију инхибитора киназе зависних од циклина p16, p21 и p27, што је зауставило BCL1 ћелије у G1 фази ћелијског циклуса. Смањен процент BCL1 ћелија третираних комплексом PtCl₂(C-pr-thiosal)₂ у S фази ћелијског циклуса повезан је са смањеним процентом ових ћелија које експримирају Ki-67. Израгање BCL1 ћелија комплексу PtCl₂(C-pr-thiosal)₂ смањило је експресију фосфорилисаног STAT3 и експресију гена који регулишу овај транскрипциони фактор, а који регулишу матичност туморских ћелија, NANOG, циклин D3, c-Myc, и експресију фосфорилисаног NFκB *in vitro* и *in vivo*.

Резултати ове студије показују да PtCl₂(C-pr-thiosal)₂ смањује фосфорилацију STAT3 и NFκB и појачава активацију апоптозе, инхибицију пролиферације и атеуира матичност туморских ћелија.

Кључне речи: CLL, цисплатина, платина(IV) комплекси, STAT3, апоптоза, ћелијски циклус

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ОИ175069), билатералним пројектом са НР Кином (06/2018) и средствима Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (ЈР 18/19, ЈР 19/19, МР 01/19 и МР 02/19).

CYTOTOXICITY OF PLATINUM (IV) COMPLEX IN MOUSE MODEL OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Zana Besser Silconi^{1,2}, Sasa Benazic^{1,3}, Zeljko Todorovic^{1,4}, Dragana Arsenijevic^{1,5}, Bojana Stojanovic^{1,6},
Gordana Radosavljevic¹, Jelena Pantic¹, Aleksandar Arsenijevic¹, Jelena Milovanovic^{1,7},
Nebojsa Arsenijevic¹, Marija Milovanovic¹

¹Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research,
Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

²Department of Cytology, General Hospital, Pula, Croatia

³Department of Transfusiology, General Hospital, Pula, Croatia

⁴Department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁵Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac 2

⁶Department of Pathological Physiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁷Department of Histology and Embryology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

ABSTRACT

The treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia is limited by quick development of resistance to standard therapeutics. The aim of this study was to explore the potential antitumor activity of novel platinum(IV) complex with alkyl derivatives of thiosalicylic acid toward murine BCL1 chronic lymphocytic leukemia cells and to delineate possible mechanisms of action. The most potent complex PtCl₂(S-pr-thiosal)₂, reduced viability of BCL1 cells *in vitro*, but also reduced growth of metastases in BCL1 leukemia model in BALB/c mice. Complex PtCl₂(S-pr-thiosal)₂ induced caspase dependant apoptosis, inhibit proliferation of BCL1 cells and induced cell cycle disturbance. Treatment of BCL1 cells with PtCl₂(S-pr-thiosal)₂ inhibited expression of cyclin D3 and cyclin E and enhanced expression of cyclin-dependent kinase inhibitors p16, p21, and p27 resulting in cell cycle arrest in G1 phase. Reduced percentage of BCL1 cells treated with PtCl₂(S-pr-thiosal)₂ in S phase of cell cycle was accompanied by decreased percentage of Ki-67 positive cells. Treatment with PtCl₂(S-pr-thiosal)₂ also reduced expression of phosphorylated STAT3 and downstream regulated molecules associated with cancer stemness and proliferation, NANOG, cyclin D3, and c-Myc, and expression of phosphorylated NFκB *in vitro* and *in vivo*.

In conclusion, PtCl₂(S-pr-thiosal)₂ reduces STAT3 and NFκB phosphorylation and consecutive triggering of apoptotic cells death, inhibition of cell proliferation and attenuation of cancer stemness.

Key words: CLL, cisplatin, platinum(IV) complex, STAT3, apoptosis, cell cycle

Funding: The research was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (OI175069) and bilateral project with the People's Republic of China (06/2018) and the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac (JP 18/19, JP 19/19, MP 01/19 and MP 2/19).

СТРАТЕГИЈА МОЛЕКУЛАРНОГ ТЕСТИРАЊА У НЕМИКРОЦЕЛУЛАРНОМ КАРЦИНОМУ ПЛУЋА- УЛОГА ПАТОЛОГА

Живка Ери¹

¹Здравствена установа Медлаб, Нови Сад

САЖЕТАК

Рак плућа остаје један од најчешће дијагностикованих малигнитета широм света и водећи узрок смрти од рака. Рак плућа је категорисан или као микроцелуларни карцином у приближно 10% до 15% случајева или као немикроцелуларни карцином у приближно 80% до 85% случајева. Рак плућа се дијагностикује у узнапредовалом стадијуму код 72% до 76% пацијената у Великој Британији и 57% у САД, што искључује куративни третман, а повезан је са лошом прогнозом.

Квалитет хистолошке и цитолошке дијагнозе карцинома плућа, као и додатних молекуларних тестирања, је у великој зависности од поступања са узорком у преаналитичкој фази од тренутка када је добијен. Из тог разлога је неопходна стандардизација руковања и обраде узорака како би се смањила техничка варијабилност.

Коначни приступ је да патолози аутоматски наручују молекуларно тестирање одмах након хистолошке и цитолошке дијагнозе код пацијената са узнапредовалим NSCLC, што се назива рефлексним тестирањем. Нажалост, обично је потребан пристанак пацијента за молекуларно/генетско тестирање, а постоји и проблем ко даје пристанак пацијента у таквом случају. Молекуларно тестирање идентификује пацијенте са узнапредовалим немикроцелуларним карциномом плућа који могу имати користи од циљане терапије или имунотерапије. Тренутне смернице наводе да молекуларно тестирање треба спровести у време иницијалне дијагнозе и прогресије тумора на циљаној терапији. Овај прецизни онколошки приступ користи циљане терапије, укључујући инхибиторе ЕГФР тирозин киназе (ЕГФР-ТКИ), АЛК инхибиторе, РОС1 инхибиторе, БРАФ инхибиторе и имунотерапију [нпр. програмирана ћелијска смрт-1 (ПД-1)/програмирани лиганд ћелијске смрти-1 (ПД-Л1) инхибитори], преко хемиотерапије у првој линији.

Анализа промена код којих је могућа циљна терапија у генима ЕГФР, БРАФ, МЕТ, КРАС, АЛК, РОС1, РЕТ и НТРК1/2/3 је мање-више стандардизована и може се постићи коришћењем једне дијагностичке платформе, нпр. секвенцирање следеће генерације (НГС) или ланчана реакција полимеразе (ПЦР). ПД-Л1 тестирање захтева употребу имунохистохемије. Постоји више ПД-Л1 ИХЦ тестова који користе различита антитела и системе за детекцију. Ови ПД-Л1 тестови су прилагођени различитим лековима, често се ослањају на различите скорове и смернице за бодовање и карактерише их непотпуна међулабораторијска и међупосматрачка поновљивост.

Кључне речи: немикроцелуларни карцином плућа, медицална онкологија, молекуларне дијагностичке технике, патолог

MOLECULAR TESTING STRATEGIES IN NON-SMALL CELL LUNG CARCINOMA- PATHOLOGIST'S ROLE

Zivka Eri¹

¹*Zdravstvena ustanova Medlab, Novi Sad*

ABSTRACT

Lung cancer remains one of the most commonly diagnosed malignancies worldwide and the leading cause of cancer-related death. Lung cancer is categorized as either small-cell lung cancer in approximately 10% to 15% of cases or non-small cell lung cancer in approximately 80% to 85% of case. Lung cancer is diagnosed at an advanced stage in 72% to 76% of patients in the UK and 57% in the US, precluding curative treatment and is associated with poor prognosis.

The quality of a histological diagnosis, as well as the additional molecular determinations, is strongly influenced by the pre-analytical management of the sample from the time it is obtained. For that reason, standardisation of sample handling and processing is necessary to reduce technical variability. The final approach is that pathologists automatically order molecular testing immediately after histological and cytological diagnosis in patients with advanced NSCLC, referred to as reflex testing. Unfortunately, however, patient consent is usually required for molecular/genetic testing, and there is the problem of who consents the patient in such a case.

Molecular testing identifies patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) who may benefit from targeted therapy or immunotherapy. Current guidelines state that molecular testing should be conducted at the time of initial diagnosis and tumor progression on targeted therapy. This precision oncology approach utilizes targeted therapies, including EGFR tyrosine kinase inhibitors (EGFR-TKIs), ALK inhibitors, ROS1 inhibitors, BRAF inhibitors, and immunotherapy [e.g., programmed cell death-1 (PD-1)/programmed cell death ligand-1 (PD-L1) inhibitors], over chemotherapy in the first-line setting. The analysis of druggable alterations in EGFR, BRAF, MET, KRAS, ALK, ROS1, RET and NTRK1/2/3 genes is more or less standardized and can be achieved using a single diagnostic platform, e.g., next generation sequencing (NGS) or polymerase chain reaction (PCR). PD-L1 testing requires the use of immunohistochemistry (IHC). There are multiple PD-L1 IHC assays, which utilize distinct antibodies and detection systems. These PD-L1 tests are tailored to distinct drugs, often rely on different thresholds and scoring guidelines, and are characterized by incomplete inter-laboratory and inter-observer reproducibility.

Key words: non-small cell lung carcinoma, medical oncology, molecular diagnostic techniques, pathologist

БИЉНЕ БИОКТИВНЕ КОМПОНЕНТЕ У ТРЕТМАНУ КАНЦЕРА: МИТ ИЛИ НАДА?

Зора Дајић Стевановић¹, Небојша Арсенијевић², Стефан Колашинац¹, Данијела Максимовић³,
Сања Мијаговић³, Никола Танић³, Наста Танић⁴, Татјана Кањевац²

¹Универзитет у Београду Пољопривредни факултет

²Универзитет у Крајеву Факултет за медицинске науке

³Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Београд

⁴Универзитет у Београду Институт за нуклеарне науке Винча

САЖЕТАК

Секундарни метаболити биљака се због свог високог биоактивног дејства користе у профилакси и лечењу различитих обољења. Биљне компоненте имају дугу историју коришћења у третману канцера. Постоје многи занимљиви подаци из етноботаничких студија, укључујући и оне са подручја Балкана, иначе подручја познатог по високом диверзитету лековитог биља, о употреби различитих анти-канцерогених биљака. Више од 3000 биљних врста са анти-канцерогеним потенцијалом је споменуто у светској литератури. Последњих деценија је показано да биљни метаболити испољавају високе и обећавајуће терапијске ефекте у третману канцерогених обољења. Чак 10.000 биоактивних биљних компоненти је идентификовано као потенцијално анти-канцерогених, међу којима су највише проучавани алкалоиди, флавоноиди, лигнани, кондензовани танини, терпеноиди (компоненте етарских уља), и други. Многа биоактивна биљна једињења испољавају синергистичка дејства приликом коришћења са стандардним анти-канцерогеним терапеутицима, при чему могу умањити и негативне токсичне ефекте цитостатика. Наш рад има за циљ да представи најчешће коришћене биљне врсте у третману канцера у вези са хемијским саставом њихових дрога, тј., доминантним биоактивним компонентама. Такође, биће размотрени и потенцијални антиканцерогени механизми деловања важнијих биљних секундарних метаболита, као и њихови ефекти на нпр. апоптозу, инхибицију NF-κB фактора, модулацију Wnt-бета-катенин сигналних путева, аутофагију, као и позитивне утицаје на резистентност канцерогених ћелија на различите хемијске агенсе и епигенетичке одговоре. Иначе је познато да су висока антиоксидативна активност и анти-инфламацијски ефекти биљних дрога повезани са њиховим анти-канцерогеним дејством. Неколико оваквих, у свету добро проучених, као и неколико аутохтоних врста са нашег подручја, ће бити посебно представљено.

Кључне речи: етноботаника, секундарни биљни метаболити, алкалоиди, етарска уља, антиканцерогени механизми

Истраживање је финансирано средствима: Билатералног пројекта са народном републиком Кином (06/2018).

PLANT BIOACTIVE COMPOUNDS IN CANCER TREATMENT: MYTH OR HOPE?

Zora Dajić Stevanović¹, Nebojša Arsenijević², Stefan Kolašinac¹, Danijela Maksimović³,
Sanja Mijatović³, Nikola Tanić³, Nasta Tanić⁴, Tatjana Kanjevac²

¹University of Belgrade Faculty of Agriculture

²University of Kragujevac Faculty of Medical Sciences

³Institute for Biological Research „Siniša Stanković“

⁴University of Belgrade, Vinča Institute of Nuclear Sciences

ABSTRACT

Secondary metabolites of plants are known as efficient bioactive compounds used in prophylaxes and treatment of different disorders and diseases. Plants products have a long history of use in the treatment of cancer. There are very interesting reports from ethnobotanical studies, including those from the Balkan region, known for high diversity of medicinal plants, highlighting the use of various plant drugs as anticancer agents. More than 3000 plant species were listed as possible anticancer agents. In the last few decades it was shown that some of plant metabolites exhibit potent and promising therapeutic effects in cancer treatment. Surprisingly, more than 10,000 phytochemicals have been identified and used in cancer treatment due to their anti-cancer properties. The most researched are those belonging to alkaloids, flavonoids, lignans, condensed tannins, terpenoids (components of essential oils), and others. Additionally, bioactive compounds could synergistically increase the efficiency of anti-cancer drugs and reduce their toxic effects. Many successful anti-cancer drugs currently in use, or their analogues, are plant derived and many more are under clinical trials. This review aims to address the most reported plants used for cancer treatment in relation to their major bioactive compounds. Furthermore, possible mechanisms of anticancer activity of selected plant metabolites will be discussed, including apoptotic pathways, inhibition of Nuclear Factor- κ B (NF- κ B), modulation of Wnt/beta-catenin signaling, autophagy, sensitization of multidrug resistant cancer cells, prevention of cancer cell metastasis and epigenetic regulation. It is well assumed that high antioxidant activity and anti-inflammatory effects of herbal drugs are associated with the anticancer activity. In our study, several well-known and several autochthonous medicinal plants which expressed the anticancer potential, will be additionally presented.

Key words: ethnobotany, plant secondary compounds, alkaloids, essential oils, anti-cancer mechanisms

Funding: This work was supported by the project with PR China (06/2018).

ПОЈАЧАНА ПРО- TH1 И TH17 ТРАНСКРИПЦИОНА АКТИВНОСТ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ТЕШКИМ ОБЛИКОМ COVID-19

Марина З. Јовановић¹, Софија Секулић², Миодраг Јоцић³, Милена Јуришевић⁴, Невена Гајовић⁵,
Марина М. Јовановић⁶, Небојша Арсенијевић⁵, Милан Јовановић⁷, Милош Милосављевић⁵,
Слободан Јаковљевић⁸, Ружица Лукић⁹, Зорана Марић Остојић⁹,
Невена Видојевић⁹, **Иван Јовановић⁵**

¹Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Оториноларингологију
²Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Инфективне болести
³Војномедицинска академија, Београд, Србија, Институт за трансфузиологију и хемодиологију
⁴Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Клиничку фармацију
⁵Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука,
Центар за Молекулску Медицину и Истраживање Матичних Ћелија
⁶Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Интерну медицину
⁷Војномедицинска академија, Медицински факултет, Београд, Србија, Катедра за абдоминалну хирургију
⁸Универзитетски клинички центар Крајева, Србија, Хируршка клиника
⁹Универзитет у Источном Сарајеву, БиХ, Медицински факултет, Катедра за микробиологију

САЖЕТАК

Познато је да COVID-19 модулише имунски одговор и изазива хипе-инфламацију која би потенцијално могла да изазове фатални исход болести. До сада је познато да је интеракција између цитокина веома важна за клиничку слику и исход COVID-19. Циљ ове студије је био да се утврди транскрипциона активност и функционални фенотип Т лимфоцита и однос између проинфламацијских и антиинфламацијских цитокина и клиничких параметара тежине COVID-19. Сви регрутовани пацијенти који испуњавају критеријуме за COVID-19 подељени су у четири групе према тежини болести. Измерене су вредности IL-12, IFN- γ , IL-17 и IL-23 у серуму и урађена анализа Т лимфоцита из периферне крви проточном цитометријом. Резултати су показали значајно повећање IL-12, IFN- γ , IL-17 и IL-23 у IV стадијуму болести. Јака међукорелација између IL-12, IFN- γ , IL-17 и IL-23 је детектована у IV стадијуму болести, указујући на појачан Th1 и Th17 имунски одговор. Анализа субпопулација Т лимфоцита показала је значајну промену фенотипа. CD4+, али не и CD8+ Т лимфоцита. Промене се манифестују кроз повећану транскрипциону активност, тј. експресију Tbet и ROR γ T, праћену повећаним процентом Т лимфоцита које продукују IFN- γ и IL-17. Добијени резултати представљају нову хипотезу о основном механизму који стоји иза погоршања имунског одговора код тешког облика COVID-19.

Кључне речи: CD4+ Т лимфоцити, Th1, Th17, Tbet, ROR γ T, COVID-19

Истраживање је финансирано средствима: Пројекта Фонда за науку Републике Србије (СИБИРС), пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја (175069), билатералног пројекта са народном републиком Кином (06/2018).

INCREASED PRO TH1 AND TH17 TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY IN PATIENTS WITH SEVERE COVID-19

Marina Z. Jovanovic¹, Sofija Sekulic², Miodrag Jovic³, Milena Jurisevic⁴, Nevena Gajovic⁵,
Marina M. Jovanovic⁶, Nebojsa Arsenijevic⁵, Milan Jovanovic⁷, Milos Milosavljevic⁵,
Slobodan Jakovljevic⁸, Ruzica Lukic⁹, Zorana Maric Ostojic⁹, Nevena Vidojevic⁹, **Ivan Jovanovic⁵**

¹University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Otorhinolaryngology

²University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Infectious disease

³Military Medical Academy, Belgrade, Serbia, Institute for Transfusiology and Haemobiology

⁴University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Clinical pharmacy

⁵University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences,

Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research

⁶University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Internal medicine

⁷Military Medical Academy, Belgrade, Serbia, Department of Abdominal surgery

⁸University Clinical Center Kragujevac, Serbia, Department of Surgery

⁹University of East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Faculty of Medicine, Department of Microbiology

ABSTRACT

COVID-19 is known to disrupt immune response and induce hyper inflammation that could potentially induce fatal outcome of the disease. Until now, it is known that interplay among cytokines is rather important for clinical presentation and outcome of COVID-19. The aim of this study was to determine transcriptional activity and functional phenotype of T cells and the relationship between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines and clinical parameters of COVID-19 severity. All recruited patients met criteria for COVID-19 and were divided in four groups according to disease severity. Serum levels of IL-12, IFN- γ , IL-17 and IL-23 were measured, and flow cytometry analysis of T cells from peripheral blood was performed. Results showed significant elevation of IL-12, IFN- γ , IL-17 and IL-23 in stage IV of the disease. Further, strong intercorrelation between IL-12, IFN- γ , IL-17 and IL-23 was also found in stage IV of the disease, marking augmented Th1 and Th17 response. Analysis of T cells subsets showed a noticeable phenotype change. CD4+, but not CD8+ T cells expressed increased transcriptional activity through increased expression of Tbet and ROR γ T, accompanied with increased percentage of IFN- γ and IL-17 producing T cells. Our results pose a novel hypothesis of underlying mechanism behind deteriorating immune response in severe cases of COVID-19.

Key words: CD4+ T cells, Th1, Th17, Tbet, ROR γ T, COVID-19 severity

Funding: This work was supported by a grant from the Science Fund of the Republic of Serbia (CIBIRDS), Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (175069), project with PR China (06/2018).

СИТАГЛИПТИН, ДПП-4 ИНХИБИТОР, ИНДУКУЈЕ НАСТАНАК ТОЛЕРОГЕНИХ ДЕНДРИТСКИХ ЋЕЛИЈА КОЈЕ ИСПОЉАВАЈУ ILT-4

Марија Дракул¹, Марина Бекић², Милош Васиљевић¹, Драгана Вучевић³,
Сергеј Томић^{1,2}, Миодраг Чолић^{1,2}

¹Универзитет у Источном Сарајеву, Медицински факултет Фоча, БиХ-РС

²Универзитет у Београду, Институт за примену нуклеарне енергије, Београд, Србија

³Универзитет у Београду, Војномедицинска академија, ВМА

САЖЕТАК

Инхибитори дипептидил пептидазе (ДПП)-4 припадају групи оралних антидијабетичних лекова који су индиковани за лечење дијабетес мелитуса типа 2. Поред ефеката на снижавање глукозе, нови подаци сугеришу да инхибитори ДПП-4 могу да испоље и антиинфламаторне ефекте, али молекуларни и имунолошки механизми ових деловања нису довољно истражени. Користећи модел дендритских ћелија добијених из хуманих моноцита (MoDC) периферне крви, које су кључне ћелије укључене у активацију и регулацију имунског одговора, испитивали смо смо како нетоксичне концентрације ситаглиптина (250 µg/ml и 500 µg/ml) утичу на својства дендритских ћелија (морфологију, диференцијацију и потенцијал сазревања), као и способност модулације имуног одговора посредованог Т-ћелијама *in vitro*. Показано је да ситаглиптин инхибира диференцијацију MoDC, на основу анализе ко-експресије маркера CD14/CD1a. Ови резултати су корелирали са slabим капацитетом сазревања MoDC третираних ситаглиптином, након стимулације са LPS/IFN-γ, и њиховим смањеним капацитетом да стимулишу пролиферацију Т-ћелија у ко-култури, у поређењу са контролним MoDC. Штавише, MoDC третиране ситаглиптином показале су већу експресију толерогеног маркера ILT-4 и продуковале значајно више TGF-β. У ко-култури са Т-ћелијама, MoDC третиране ситаглиптином су потенцирале Th2 поларизацију и индуковале већи проценат CD4+CD25^{high}Foxp3+TGF-β⁺ регулаторних Т-ћелија, у поређењу са одговарајућим контролним MoDC. Наши резултати сугеришу, по први пут, да инхибитори ДПП-4 могу да индукују толерогена својства дендритских ћелија, што би могло да објасни нека од антиинфламаторних својстава ове групе лекова. Поред ефеката снижења нивоа глукозе у крви, имунотолерогена својства инхибитора ДПП-4 могу бити корисна за превенцију микроваскуларних и макроваскуларних компликација код дијабетичара, али и у терапији инфламаторних болести.

Кључне речи: ДПП-4 инхибитори, дендритске ћелије, толерогеност, регулаторне Т-ћелије

SITAGLIPTIN, DIPEPTIDYL PEPTIDASE 4-INHIBITOR, INDUCE TOLEROGENTIC ILT4-EXPRESSING HUMAN DENDRITIC CELLS

Marija Drakul¹, Marina Bekic², Miloš Vasiljevic¹, Dragana Vucevic, Sergej Tomic², Miodrag Colic^{1,2}

¹University of East Sarajevo, Medical Faculty Foca, R. Srpska, BiH

²University of Belgrade, Institute for Application of Nuclear Energy, Belgrade, Serbia

³University of Defence in Belgrade, Medical Faculty of the Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

ABSTRACT

Dipeptidyl peptidase (DPP)-4 inhibitors belong to a class of anti-hyperglycemic agents indicated for patients with type-2 diabetes. In addition to glucose-lowering effects, emerging data suggest that DPP4 inhibitors could display anti-inflammatory effects as well, but the molecular and immunological mechanisms of these actions are insufficiently investigated. Using a model of human monocyte-derived dendritic cells (MoDC), which are the key immune regulatory cells, we investigated how non-toxic concentrations of Sitagliptin (250 µg/ml and 500 µg/ml) affect DC properties (morphology, differentiation, and maturation potential), as well as the capacity to modulate T cell-mediated immune response in vitro. We found an inhibited DC differentiation, according to CD14/CD1a co-expression analysis, in the presence of sitagliptin. These results correlated with a weak maturation capacity of sitagliptin-treated MoDC upon stimulation with LPS/IFN-γ and their lower capacity to stimulate T cell proliferation in co-culture, compared to control MoDC. Moreover, sitagliptin-treated MoDC displayed a higher expression of immunoglobulin-like-transcript (ILT) 4 tolerogenic marker and produced significantly more TGF-β. In co-culture with T cells, sitagliptin-treated MoDC potentiated Th2 polarization and induced a higher percentage of CD4+CD25^{high}Foxp3+TGF-β⁺ regulatory T cells, compared to corresponding control MoDC. Our results suggest for the first time that DPP4 inhibitors can induce tolerogenic properties in DCs, which could explain some of the anti-inflammatory actions observed for these anti-diabetic drugs. Besides glucose lowering effects, the tolerogenic properties of DPP-4 inhibitors, could be beneficial for prevention of microvascular and macrovascular complications in diabetic patients, but also in the therapy of inflammatory diseases.

Key words: DPP-4 inhibitors, dendritic cells, tolerance, regulatory T-cells

ПОВЕЋАНА ТЕЖИНА УЛЦЕРОЗНОГ КОЛИТИСА У ТЕРМИНАЛНОЈ ФАЗИ МЕТАБОЛИЧКОГ СИНДРОМА

Марина М. Јовановић¹, Милена Јуришевић², Невена Гајовић³, Небојша Арсенијевић³,
Миодраг Јоцић⁴, Милан Јовановић⁵, Анђела Петровић³, Слободан Јаковљевић⁶,
Наташа Здравковић¹, Вељко Марић⁷

¹Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука,
Катедра за Интерну медицину

²Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука,
Катедра за Клиничку фармацију

³Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука,
Центар за Молекулску Медицину и Истраживање Мајичних Ћелија

⁴Војномедицинска академија, Београд, Србија, Институт за трансфузиологију и хемобиологију

⁵Војномедицинска академија, Медицински факултет, Београд, Србија,
Катедра за абдоминалну хирургију

⁶Универзитетски клинички центар Крајева, Србија, Хируршка клиника

⁷Универзитет у Источном Сарајеву, БиХ, Медицински факултет, Катедра за хирургију

САЖЕТАК

Улцерозни колитис је хронични имунски посредован поремећај који погађа првенствено слузокожу дебелог црева. Метаболички синдром има све већу глобалну преваленцију са значајним утицајем на биологију хроничних болести, као што је улцерозни колитис. Данас је познато да метаболички синдром ублажава тежину улцерозног колитиса. Ипак, нема доказа да различити стадијуми метаболичког синдрома мењају ток улцерозног колитиса. Циљ ове студије је био да се испита како прогресија метаболичког синдрома утиче на биологију улцерозног колитиса и тежину клиничке слике. Седамдесет два пацијента, од којих 41 мушкарац и 31 жена, старости 22-81 година, укључена су у ову опсервациону студију пресека. Мерене су концентрације про- и анти- инфламацијских цитокина у узорцима серума и фецеса и анализиран је фенотип леукоцита који инфилтришу колон. Болесници у терминалној фази метаболичког синдрома имају клинички и патохистолошки тежи облик улцерозног колитиса, који је праћен смањеном концентрацијом системског галектина-1, повишеним вредностима системских проинфламацијских медијатора и појачаном миграцијом лимфоцита у захваћено ткиво дебелог црева. Наши подаци сугеришу да смањена концентрација галектина-1 и доминација проинфламацијских медијатора код пацијената са терминалним стадијумом метаболичког синдрома појачавају локални хронични инфламацијски одговор и накнадно оштећење ткива и заједно указују на важну улогу галектина-1 у имунском одговору код пацијената са улцерозним колитисом и метаболичким синдромом.

Кључне речи: Улцерозни колитис, Метаболички синдром, Тежина болести, Иmunски одговор

Рад је публикован: Jovanovic M, Jurisevic M, Gajovic N, Arsenijevic N, Jovic M, Jovanovic I, Zdravkovic N, Djukic A, Maric V and Jovanovic M. Increased Severity of Ulcerative Colitis in the Terminal Phase of the Metabolic Syndrome. *Tohoku J. Exp. Med.* 2021; 254: 171-182 doi: 10.1620/tjem.254.171.

Истраживање је финансирано средствима: Пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја (175069), билатералног пројекта са народном републиком Кином (06/2018) и интерних пројеката Факултета медицинских наука у Крагујевцу (JP15/19 и JP11/18).

INCREASED SEVERITY OF ULCERATIVE COLITIS IN THE TERMINAL PHASE OF THE METABOLIC SYNDROME

Marina M. Jovanovic¹, Milena Jurisevic², Nevena Gajovic³, Nebojsa Arsenijevic³, Miodrag Jovic⁴,
Milan Jovanovic⁵, Andjela Petrovic³, Slobodan Jakovljevic⁶,
Natasa Zdravkovic¹, Veljko Maric⁷

¹University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Internal medicine

²University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Clinical pharmacy

³University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences,

Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research

⁴Military Medical Academy, Belgrade, Serbia, Institute for Transfusiology and Haemobiology

⁵Military Medical Academy, Belgrade, Serbia, Department of Abdominal surgery

⁶University Clinical Center Kragujevac, Serbia, Department of Surgery

⁷University of East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Faculty of Medicine, Department of Surgery

ABSTRACT

Ulcerative colitis is chronic immune-mediated disorder that affects primarily colonic mucosa. Metabolic syndrome has increasing global prevalence with a significant impact on biology of chronic diseases, such as ulcerative colitis. Today it is known that metabolic syndrome attenuate severity of ulcerative colitis. Still, there is no evidence that different stages of metabolic syndrome alter the course of the ulcerative colitis. The aim of this study was to dissect out how progression of metabolic syndrome impacted the biology of ulcerative colitis and severity of clinical presentation. Seventy-two patients, from which 41 men and 31 women, ages 22-81 were enrolled in this observational cross-sectional study. Concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines in serum and feces samples were measured and phenotype of colon infiltrating cells was analyzed. Patients in the terminal phase of metabolic syndrome have clinically and pathohistologically more severe form of ulcerative colitis, which is followed by decreased concentration of systemic galectin-1, increased values of systemic pro-inflammatory mediators and increased influx of lymphocytes in affected colon tissue. Our data suggest that reduced concentration of galectin-1 and predomination of the pro-inflammatory mediators in patients with terminal stage of metabolic syndrome enhance local chronic inflammatory response and subsequent tissue damage and together point on important role of galectin-1 in immune response in ulcerative colitis patients with metabolic syndrome.

Key words: Ulcerative colitis, Metabolic syndrome progression, Disease severity, Immune response

The paper is published: Jovanovic M, Jurisevic M, Gajovic N, Arsenijevic N, Jovic M, Jovanovic I, Zdravkovic N, Djukic A, Maric V and Jovanovic M. Increased Severity of Ulcerative Colitis in the Terminal Phase of the Metabolic Syndrome. *Tohoku J. Exp. Med.* 2021; 254: 171-182 doi: 10.1620/tjem.254.171.

Funding: This work was supported by a grant from the Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (175069), project with PR China (06/2018) and from the Faculty of Medical Sciences Kragujevac (projects JP15/19 and JP11/18), Serbia.

АНОСМИЈА ИНДУКОВАНА COVID19. УЛОГА ИНТЕРЛЕУКИНА-10

Марина З. Јовановић¹, Невена Гајовић², Милена Јуришевић³,
Матина М. Јовановић⁴, Софија Секулић⁵, Небојша Арсенијевић²,
Слободан Јаковљевић⁶, Иван Јовановић²

¹Универзитет у Крајујевцу, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Оториноларингологију

²Универзитет у Крајујевцу, Србија, Факултет медицинских наука,
Центар за Молекулску Медицину и Истраживање Мајичних Ђелија

³Универзитет у Крајујевцу, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Клиничку фармацију

⁴Универзитет у Крајујевцу, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Интерну медицину

⁵Универзитет у Крајујевцу, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Инфективне болести

⁶Универзитетски клинички центар Крајујевац, Србија, Хирушка клиника

САЖЕТАК

За разлику од других аносмија изазваних вирусом, аносмија изазвана SARS CoV2 има различите карактеристике, почевши од основног патофизиолошког механизма до периода опоравка и коначног исхода. 112 хоспитализованих пацијената са COVID-19 подељено је у четири групе према тежини болести како би се испитало присуство аносмије у различитим стадијумима COVID-19. Анализирани су резултати стандардних лабораторијских и биохемијских анализа, анализа гасова у крви као и нивои цитокина код пацијената са COVID-19 са/без аносмије.

Пацијенти са аносмијом немају значајно измењену крвну слику, биохемијске анализе и гасне анализе артеријске крви. Међутим, пацијенти са аносмијом имају другачији профил цитокина у серуму, што је илустровано повећањем IL-10 и смањеним IL-1 и IL-33 у серуму, као и преминацијом имуносупресивних цитокина над проинфламацијским.

Чини се да се пацијенти са аносмијом не разликују од пацијената без аносмије у погледу броја крвних зрнаца, биохемијских параметара, гасне анализе артеријске крви, али имају претежно имуносупресивни профил цитокина у серуму који вероватно неутралише проинфламацијску каскаду која води до цитокинске олује. Наши подаци нуде потпуно нову перспективу аносмије изазване SARS CoV2, и што је још важније, нуде нови увид у било коју аносмију изазвану вирусом.

Кључне речи: Аносмија, COVID 19; Интерлеукин-10; Интерлеукин-1 β ; Интерлеукин-33

Истраживање је финансирано средствима: Пројекта Фонда за науку Републике Србије (CIBIRDS), пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја (175069), билатералног пројекта са народном републиком Кином (06/2018).

COVID19 INDUCED ANOSMIA. ROLE OF IL-10

Marina Z. Jovanovic¹, Nevena Gajovic², Milena Jurisevic³, Marina M. Jovanovic⁴, Sofija Sekulic⁵,
Milica Jevtic¹, Jasmina Stojanovic¹, Nebojsa Arsenijevic²,
Slobodan Jakovljevic⁶, Ivan Jovanovic²

¹University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Otorhinolaryngology

²University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences,
Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research

³University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Clinical pharmacy

⁴University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Internal medicine

⁵University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Infectious disease

⁶University Clinical Center Kragujevac, Serbia, Department of Surgery

ABSTRACT

Unlike other virus induced anosmias, SARS CoV2 induced anosmia has distinct features, starting from underlying pathophysiology mechanism to recovery period and final outcome. 112 of hospitalized COVID19 patients were divided into four groups according to disease severity in order to examine the presence of anosmia in different severity stages of COVID19. Further on, standard laboratory and biochemical analysis, blood gas analysis as well as cytokine levels were examined in COVID19 patients with/without anosmia.

Patients with anosmia do not have significantly altered blood cell count, biochemical analysis and arterial blood gas analysis. However, patients with anosmia have different cytokine profile in sera, which is illustrated by increment of IL-10 and decreased IL-1 and IL-33 in sera, as well as predominance of immunosuppressive cytokines over proinflammatory.

Patients with anosmia don't seem to differ from patients without anosmia in terms of blood cell count, biochemical analysis, arterial blood gas analysis, but have predominantly immunosuppressive cytokine profile in sera which possibly neutralizes proinflammatory cascade leading to cytokine storm. Our data are offering a brand new perspective of SARS CoV- induced anosmia, and more importantly, offer a new insight of any viral-induced anosmia.

Key words: Anosmia, COVID 19; Interleukin-10; Interleukin-1 β ; Interleukin-33

Funding: This work was supported by a grant from the Science Fund of the Republic of Serbia (CIBIRDS), Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (175069), project with PR China (06/2018).

СТУДИЈЕ ВЕЗИВАЊА СРЕБРО(I) КОМПЛЕКСА СА S-АЛКИЛ ДЕРИВАТИМА ТИОСАЛИЦИЛНЕ КИСЕЛИНЕ ЗА ДНК И БСА

Душан Томовић¹, Марина Мијајловић¹, Милош Николић¹, Андриана Букоњић¹, Ана Живановић¹, Никола Недељковић¹, Снежана Јовановић-Стевић², Јована Богојески², Зоран Ратковић², Гордана Радић¹

¹Универзитет у Крајевцу, Факултет медицинских наука,
Одсек за фармацију, Крајевац, Србија

²Универзитет у Крајевцу, Природно-математички факултет,
Одсек за хемију, Крајевац, Србија

САЖЕТАК

Међу једињењима која у основи садрже јоне метала, комплекси сребра су посебно занимљиви антитуморски агенси због њихове ниске токсичности коју изазивају код људи. ДНК је кључна терапијска мета за многе антитуморске комплексе, тако да је истраживање интеракције лек-ДНК важан корак у покушају да се разјасни механизам деловања лека [1]. Студије интеракције са серумским албуминима могу дати корисне информације о структурним карактеристикама које одређују терапијску ефикасност лекова [2]. Стога је циљ овог рада да се испитају интеракције новосинтетисаних сребро(I) комплекса (C1-C5) са S-алкил дериватима тиосалицилне киселине (метил-L1, етил-L2, пропил-L3, бутил-L4 и бензил-L5) са ЦТ-ДНК (ДНК изолована из говеђег тимуса) и БСА (говеђи серумски албумин).

Интеракције између комплекса C1-C5 и ЦТ-ДНК/БСА су проучаване коришћењем UV-Vis и флуоресцентне спектроскопије. Раствори комплекса/ЦТ-ДНК су припремљени са фиксном концентрацијом раствора комплекса и повећањем концентрације основног раствора ДНК. Студија везивања протеина је изведена експериментима гашења флуоресценције триптофана са БСА, одржавањем фиксне концентрације БСА и варирањем концентрације комплекса. Вредности ЦТ-ДНК-везивања и константи гашења флуоресценције указују на јаку способност везивања проучаваних комплекса за ЦТ-ДНК, са следећим редоследом реактивности комплекса: C5>C4>C3>C2>C1. Сви тестирани комплекси имају високу способност гашења флуоресценције БСА, док је комплекс 1 показао највећу склоност везивању за БСА.

Кључне речи: сребро(I) комплекси, ДНК, БСА, антитуморски лекови

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (пројекти 172016, 172011).

DNA AND BSA BINDING OF SILVER(I) COMPLEXES WITH S-ALKYL DERIVATIVES OF THIOSALICYLIC ACID

Dušan Tomović¹, Marina Mijajlović¹, Miloš Nikolić¹, Andriana Bukonjić¹, Ana Živanović¹, Nikola Nedeljković¹, Snežana Jovanović-Stević², Jovana Bogojeski², Zoran Ratković², Gordana Radić¹

¹University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Pharmacy, Kragujevac, Serbia

²University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Kragujevac, Serbia

ABSTRACT

Among metal-based compounds, silver complexes are interesting anticancer drugs in chemotherapy due to their low toxicity in humans. DNA is a crucial therapeutic target for many anticancer metal-based drugs, so the investigation of drug-DNA interaction is an important step in an attempt to clarify the mechanism of drug action [1]. Interaction studies with serum albumins can give useful information about structural features that determine therapeutic effectiveness of drugs [2]. Therefore, the aim of this paper is to investigate the interactions of newly synthesized silver(I) complexes (C1-C5) with S-alkyl derivatives of thiosalicylic acid (methyl-L1, ethyl-L2, propyl-L3, butyl-L4 and benzyl-L5) with CT-DNA (calf thymus DNA) and BSA (bovine serum albumin).

The interactions between complexes C1-C5 and CT-DNA/BSA were studied using the UV-Vis and fluorescence spectroscopy. Solutions of complex/CT-DNA were prepared with fixed concentration of the complex solution and increments of DNA stock solution. The protein binding study was performed by tryptophan fluorescence quenching experiments with BSA, by maintaining a fixed BSA concentration and varying the concentration of complexes. The values of CT-DNA-binding and fluorescence quenching constants indicate a strong binding ability of studied complexes to CT-DNA, with the following order of complexes reactivity: C5>C4>C3 >C2>C1. All tested complexes have high quenching ability of BSA fluorescence, while complex 1 exhibited the highest binding-propensity to BSA.

Key words: silver(I) complexes, DNA, BSA, anticancer drugs

Funding: Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Projects 172016, 172011).

ИСПИТИВАЊЕ ИМУНОПАТОЛОШКОГ ЕФЕКТА ТИТАНИЈУМСКИХ ПАРТИКУЛА У ПЕРИ-ИМПЛАНТИТИСУ

Миа Ракић, Борис Ђуран, Јована Вуковић, Наташа Пејчић, Неда Перуновић,
Данило Војводић, Mariano Sanz

*ETEP, University Complutense of Madrid, Madrid, Spain
Vincula Biotech Group, Belgrade, Serbia*

САЖЕТАК

Циљеви: Идентификовати честице титанијума (ТП) у узорцима биопсије узетим из лезија периимплантитиса и секундарно проучити хистопатолошке карактеристике периимплантитиса у поређењу са пародонтитисом, како би се проценило да ли присуство ТП може да промени одговарајуће обрасце упале. Материјал и методе: Биопсије које садрже гранулационо ткиво узете су током рутинског хируршког третмана у 39 случајева периимплантитиса и 35 контрола пародонтопатије. Серијски пресеци су добијени коришћењем сечива микротомом без титанијума. Први и последњи делови узорака периимплантитиса коришћени су за идентификацију ТП помоћу скенирајуће електронске микроскопије у комбинацији са дисперзивном рендгенском спектрометријом. Средњи пресеци и узорци пародонтитиса обрађени су за дескриптивну хистолошку студију бојењем хематоксилин-еозином и за имунохистохемијску анализу коришћењем ЦД68, ИЛ-6, Нф-кБ и ВЕГФ маркера. Резултати: ТП су идентификовани у свим узорцима периимплантитиса као слободна метална тела умешана унутар гранулационог ткива. Међутим, присуство макрофага или циновских ћелија са више једара које гутају ТП није идентификовано ни у једном узорку. Гранулације пери имплантитиса су биле окарактерисане хроничним инфламаторним инфилтратом богатим неутрофилима. Око половина пацијената са периимплантитисом показала је субакутни инфилтрат карактерисан лимфоцитима преплетеним са неутрофилима и еозинофилима. У поређењу са пародонтитисом, ткива периимплантитиса су показала веће пропорције макрофага и интензивнију неоваскуларизацију, на основу значајно веће експресије ЦД68 и ВЕГФ респективно. Закључак: ТП су идентификовани у свим узорцима периимплантитиса, али без доказа било какве реакције страног тела која указује на директне патолошке ефекте ТП. Гранулационо ткиво периимплантитиса карактерише интензивна неоваскуларизација и присуство хроничног инфламаторног инфилтрата којим доминирају плазма ћелије, неутрофили и макрофаги.

Кључне речи: биопсија, CD68, дентални имплантат, гранулационо ткиво, имунохистохемија, NF-κB, периимплантитис, титанијум, VEGF

Рад је публикован: Rakic, M., Radunovic, M., Petkovic-Curcin, A., Tatic, Z., Basta-Jovanovic, G. and Sanz, M., 2022. Study on the immunopathological effect of titanium particles in peri-implantitis granulation tissue: A case-control study. *Clinical Oral Implants Research*. (accepted: 31 January 2022, DOI: 10.1111/clr.13928, If: 5,977).

Истраживање је финансирано средствима: Ову студију подржали су Министарство просвете и науке Републике Србије, Београд, Србија (референце пројекта #41008), Војно медицинска академија Републике Србије (МФВМА 07/22-24) и Српска академија наука и уметности.

STUDY ON THE IMMUNOPATHOLOGICAL EFFECT OF TITANIUM PARTICLES IN PERI-IMPLANTITIS GRANULATION TISSUE: A CASE-CONTROL STUDY

Mia Rakic, Boris Djuran, Jovana Vukovic, Natasa Pejic, Neda Perunovic,
Danilo Vojvodic, Mariano Sanz

*ETEP, University Complutense of Madrid, Madrid, Spain
Vincula Biotech Group, Belgrade, Serbia*

ABSTRACT

Objectives: To identify titanium particles (TPs) in biopsy specimens harvested from peri- implantitis lesions and secondarily to study the histopathological characteristics in peri-implantitis compared to periodontitis, in order to evaluate whether the presence of TPs could alter respective inflammatory patterns. **Material and methods:** Biopsies containing granulation tissue were harvested during routine surgical treatment in 39 peri-implantitis cases and 35 periodontitis controls. Serial sections were obtained using titanium-free microtome blades. The first and last sections of the peri-implantitis specimens were used for identification of TPs by scanning electron microscopy coupled with dispersive X- ray spectrometry. Intermediate sections and periodontitis specimens were processed for descriptive histological study using haematoxylin-eosin staining and for immunohistochemical analysis using CD68, IL-6, Nf- κ B and VEGF markers. **Results:** TPs were identified in all peri-implantitis specimens as free metal bodies interspersed within granulation tissue. However, presence of macrophages or mult-nucleated giant cells engulfing the TPs was not identified in any specimen. Peri- implantitis granulations were characterized by a chronic inflammatory infiltrate rich in neutrophils. About half of peri-implantitis patients exhibited a subacute infiltrate characterized with lymphocytes interweaved with neutrophils and eosinophils. When compared to periodontitis, peri-implantitis tissues showed higher proportions of macrophages and a more intense neovascularization, based on significantly higher expression of CD68 and VEGF respectively. **Conclusion:** TPs were identified in all peri-implantitis specimens, but without evidencing any foreign body reaction suggestive for direct pathological effects of TPs. The peri-implantitis granulation tissue was characterized by intense neovascularization and presence of a chronic inflammatory infiltrate dominated by plasma cells, neutrophils and macrophages.

Key words: biopsy, CD68, dental implant, granulation tissue, immunohistochemistry, NF- κ B, peri-implantitis, titanium, VEGF

The paper is published: Rakic, M., Radunovic, M., Petkovic-Curcin, A., Tatic, Z., Basta-Jovanovic, G. and Sanz, M., 2022. Study on the immunopathological effect of titanium particles in peri-implantitis granulation tissue: A case-control study. *Clinical Oral Implants Research*. (accepted: 31 January 2022, DOI: 10.1111/clr.13928, If: 5,977).

Funding: This study was supported by the Ministry of Education and Science, Republic of Serbia, Belgrade, Serbia (project references #41008), Medical Military Academy, Republic of Serbia (MFVMA 07/22-24) and Serbian Academy of Sciences and Arts.

КОРЕЛАЦИЈА ЦИТОКИНСКОГ ПРОФИЛА, ЛАБОРАТОРИЈСКИХ НАЛАЗА И ТЕРАПИЈСКИХ МОДАЛИТЕТА СА ТЕЖИНОМ COVID-19

Милена Јуришевић¹, Владимир Марковић², Анђела Петровић², Невена Гајовић²,
Марина З. Јовановић³, Софија Секулић⁴, Небојша Арсенијевић², Марина М. Јовановић⁵,
Слободан Јаковљевић⁶, Иван Јовановић²

¹Универзитет у Крагујевцу, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Клиничку фармацију

²Универзитет у Крагујевцу, Србија, Факултет медицинских наука,

Центар за Молекулску Медицину и Истраживање Матичних Ћелија

³Универзитет у Крагујевцу, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Оториноларингологију

⁴Универзитет у Крагујевцу, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Инфективне болести

⁵Универзитет у Крагујевцу, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Интерну медицину

⁶Универзитетски клинички центар Крагујевац, Србија, Хирушка клиника

САЖЕТАК

Вирусна инфекција COVID-19 је озбиљан глобални здравствени проблем. У јануару 2020. године откривен је нови вирус SARS-CoV-2 као узрочник атипичне пнеумоније. Основни циљ овог истраживања је утврђивање могућих разлика у лабораторијским анализама и цитокинском профилу код пацијената са блажим и тешким клиничким манифестацијама COVID-19.

Истраживање је спроведено у Универзитетском клиничком центру Крагујевац (Ковид центар) и Факултету медицинских наука (Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија) Универзитета у Крагујевцу, Србија. У студију су укључени и испитани пацијенти са потврђеном инфекцијом COVID-19 у периоду од августа 2020. до јануара 2021. који су се испуњавали укључујуће критеријуме и дали сагласност за учешће у студији.

Код пацијената са тешком формом болести нађен је повећан број неутрофила, повишене вредности С реактивног протеина, D-димера, прокалцитонина, лактат дехидрогеназе, урее, креатинина, креатин киназе, феритина, билирубина, повећан однос неутрофила и лимфоцита, као и однос С реактивног протеина и албумина, док су број лимфоцита, број моноцита и вредности албумина код ових пацијената били снижени. Пацијенти са тешким и врло тешким клиничким облицима болести имали су високе серумске концентрације проинфламацијских цитокина IL-6 и IL-1 β , али и антиинфламацијског IL-10.

Серумске концентрације IL-10 и IL-6, али и однос неутрофила и лимфоцита, могу бити потенцијални рани сигнал упозорења за настанак тешких клиничких форми COVID-19.

Кључне речи: COVID-19, тежина болести, IL-6, IL-1 β , IL-10

Истраживање је финансирано средствима: пројекта Фонда за науку Републике Србије (CIBIRDS).

CORRELATION OF CYTOKINE PROFILE, LABORATORY FINDINGS AND THERAPEUTIC MODALITIES WITH COVID-19 SEVERITY

Milena Jurisevic¹, Vladimir Markovic², Andjela Petrovic², Nevena Gajovic², Marina Z. Jovanovic³, Sofija Sekulic⁴, Nebojsa Arsenijevic², Marina M. Jovanovic⁵, Slobodan Jakovljevic⁶, Ivan Jovanovic²

¹University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Clinical pharmacy

²University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences,
Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research

³University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Otorhinolaryngology

⁴University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Infectious disease

⁵University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Internal medicine

⁶University Clinical Center Kragujevac, Serbia, Department of Surgery

ABSTRACT

COVID-19 viral infection is a serious global health problem. In January 2020, a new SARS-CoV-2 virus was identified as the cause of atypical pneumonia. The main goal of this study is to determine potential differences in laboratory findings and cytokine profile of mild and severe clinical manifestations of the COVID-19.

This study was conducted at the University Clinical Center Kragujevac (Covid Center) and the Faculty of Medical Sciences (Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research), University of Kragujevac, Serbia. Confirmed cases of COVID-19 from August 2020 to January 2021 that consented to participate in the study and met the inclusion criteria were included and examined.

Increase in neutrophil count, levels of C reactive protein, D-dimer, procalcitonin, lactate dehydrogenase, urea, creatinine, creatine kinase, ferritin, bilirubin, neutrophil-lymphocyte ratio, C reactive protein-albumin ratio and reduced lymphocyte count, monocyte count and albumin levels were detected in the group of patients with severe form of COVID-19. Higher serum concentrations of proinflammatory IL-6 and IL-1 β , as well as anti-inflammatory IL-10, were found in patients with severe and critical clinical forms of COVID-19.

Serum concentrations of IL-10 and IL-6, but also the neutrophil-lymphocyte ratio, can potentially be used as an early warning signal for the development of severe clinical form of COVID-19.

Key words: COVID-19, disease severity, IL-6, IL-1 β , IL-10

Funding: This work was supported by a grant from the Science Fund of the Republic of Serbia (CIBIRDS).

РАЗЛИКЕ У ЕКСПРЕСИЈИ КАРБОНСКЕ АНХИДРАЗЕ 9 И 12 У АДЕНОКАРЦИНОМУ ПЛУЋА И КАРЦИНОМУ СКВАМОЗНИХ ЋЕЛИЈА ПЛУЋА

Милица Недељковић¹, Јелена Стојишић², Наста Танић³, Благоје Мурганић³,
Тијана Томић³, Нејла Адемовић⁴, Никола Танић⁴

¹Институт за онкологију и радиологију Србије, Београд, Србија

²Институт за плућне болести и туберкулозу, Клинички центар Србије, Београд, Србија

³Институт за нуклеарне науке "Винча" - Институт од националној значаја за Републику Србију,
Универзитет у Београду, Београд, Србија

⁴Институт за биолошка истраживања „Синиша Сijanковић” -
Институт од националној значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија

САЖЕТАК

Карцином плућа је најчешће дијагностикована и најсмртоноснија малигна болест у свету. Аденокрацином плућа (енг. *lung adenocarcinoma*, LAC) и карцином сквамозних ћелија плућа (енг. *lung squamous cell carcinoma*, LSCC) су два подтипа неситноћелијског карцинома плућа са израженим разликама у кључним клиничким и биолошким карактеристикама. Упркос томе, ови подтипови се најчешће лече на врло сличан начин. Изузетно је важно да се разјасне механизми у основи ових разлика како би се успоставили бољи биомаркери и приступи у лечењу. У бројним типовима тумора примећена је повећана експресија карбонске анхидразе (Ca) 9 и 12. Ca9 и Ca12 имају круцијалну улогу у одржавању неутралне унутарћелијске вредности рН и киселе ванћелијске микросредине што стимулише пролиферацију и метастазирање ћелија тумора. Наши циљеви су били да детектујемо могуће разлике у нивоу експресије Ca9 и Ca12 у LAC и LSCC, и да истражимо да ли је експресија Ca9 и Ca12 асоцирана са клиничким током и исходом болести. Испитали смо експресију Ca9 и Ca12 у 71 узорку карцинома плућа, 35 (49%) LAC и 36 (51%) LSCC. Након изолације РНК и реверзне транскрипције, релативни ниво експресије РНК утврђен је коришћењем квантитативног PCR-а у реалном времену базираног на TaqMan технологији. За израчунавање статуса експресије Ca9 и Ca12 коришћена је 2- $\Delta\Delta$ CT метода. Употребили смо медијану вредности експресије да дефинишемо групе са високом, односно ниском експресијом. Висок ниво експресије Ca9 детектован је у 49% (35/71), а Ca12 у 48% (34/71) узорака. Низак ниво експресије је идентификован у преосталим узорцима. Висока експресија Ca12 била је асоцирана са LSCC подтипом ($p < 0.0001$). Када су експресија Ca9 и Ca12 посматране независно, није уочена њихова асоцијација са клиничко-хистопатолошким параметрима. Међутим, пацијенти који су истовремено имали високу експресију и Ca9 и Ca12 су живели значајно краће у односу на пацијенте са ниском експресијом Ca9/Ca12, ($p = 0.02$). Наши резултати сугеришу да експе-

сија Ca12 доприноси разликама уоченим између LAC и LSCC тумора. Појачана експресија Ca12 можда подстиче агресивно понашање неситноћелијског карцинома плућа. Ca9 висока/Ca12 висока експресија представља профил “високог ризика” у неситноћелијском карциному плућа.

Кључне речи: аденокарцином плућа; карцином сквамозних ћелија плућа; Ca9; Ca12; експресија РНК

Истраживање је финансирано средствима: Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, број уговора:451-03-68/2022-14/200007.

DIFFERENCES IN CARBONIC ANHYDRASE 9 AND 12 EXPRESSION IN LUNG ADENOCARCINOMA AND LUNG SQUAMOUS CELL CARCINOMA

Milica Nedeljkovic¹, Jelena Stojisic², Nasta Tanic³, Blagoje Murganic³, Tijana Tomic³,
Nejla Ademovic⁴, Nikola Tanic⁴

¹ *Institute of Oncology and Radiology of Serbia, Belgrade, Serbia*

² *Institute for Lung Diseases and Tuberculosis, Clinical Centre of Serbia, Belgrade, Serbia*

³ *Institute of Nuclear Sciences "Vinca", National Institute of Republic of Serbia,
University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

⁴ *Institute for Biological Research "Sinisa Stankovic", National Institute of Republic of Serbia,
University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

ABSTRACT

Lung cancer is the most frequently diagnosed and lethal malignancy in the world. Lung adenocarcinoma (LAC) and lung squamous cell carcinoma (LSCC) are two subtypes of non-small cell lung cancer (NSCLC) which differ markedly in key clinical and biological features. Despite this, they are usually treated similarly. It is imperative to elucidate the mechanisms behind these differences in order to implement better therapeutic modalities and biomarkers. Increased expression of carbonic anhydrases Ca9 and Ca12 was observed in a broad array of tumors. Ca9 and Ca12 have a crucial role in the maintenance of the neutral intracellular pH and the acidic extracellular microenvironment which stimulates the proliferation and metastasis of tumor cells. Our aim was to detect possible difference in expression level of Ca9 and Ca12 in LAC and LSCC, and to investigate whether the expression of Ca9 and Ca12 was associated with the clinical course and outcome. We evaluated the Ca9 and Ca12 expressions in 71 lung cancers, 35 (49%) LAC and 36 (51%) LSCC. After RNA isolation and reverse transcription, relative RNA expression level was evaluated using Real Time PCR and TaqMan technology. Ca9 and Ca12 expression status was calculated according to the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. We used median value of expression to designate low and high expression groups. High level of Ca9 and Ca12 expression were detected in 49% (35/71) and 48% (34/71) of NSCLC samples, respectively. Low levels of expression were identified in the rest of the specimens. High expression of Ca12 was associated with LSCC subtype ($p < 0.0001$). No associations between Ca9 or Ca12 expression and clinicopathological parameters were detected when assessed independently. However, patients with high expression of both Ca9 and Ca12 lived significantly shorter compared to the Ca9/Ca12 low expression group, ($p = 0.02$). Our results suggest that Ca12 expression contributes to the differences observed between LAC and LSCC tumors. The upregulation of Ca12

may promote the aggressive behavior of NSCLC. Ca9-high/Ca12-high expression constitutes a 'high risk' profile in NSCLC.

Key words: lung adenocarcinoma; lung squamous cell carcinoma; Ca9; Ca12; RNA expression

Funding: Ministry of Education, Science and Technological Development of Republic of Serbia, contract No:451-03-68/2022-14/200007.

ЦЕЛУЛОЗНИ НАНОКРИСТАЛИ ИНХИБИРАЈУ ДИФЕРЕНЦИЈАЦИЈУ ХУМАНИХ ДЕНДРИТСКИХ ЋЕЛИЈА ИЗ МОНОЦИТА, А ПОТЕНЦИРАЈУ ЊИХОВА ТОЛЕРОГЕНА СВОЈСТВА

Милош Васиљевић¹, Марина Бекић², Бојан Јоксимовић¹, Душан Михајловић^{1,3}, Маријана Милановић³, Ивана Мајсторовић³, Драгана Вучевић³, Сергеј Томић^{1,2}, Миодраг Чолић^{1,2}

¹ Универзитет у Источној Сарајеву, Медицински факултет Фоча, Фоча, БиХ-РС

² Универзитет у Београду, Институт за примену нуклеарне енергије, Београд, Србија

³ Универзитет у Београду, Војномедицинска академија, ВМА, Београд, Србија

САЖЕТАК

Целулозни нанокристали (CNC) су атрактивни наноматеријали чија је површина врло погодна за модификацију биомолекулама у системима за транспорт лијекова и дијагностике. Међутим, биокомпатибилност и имуномодулациска својства CNC још увијек нису довољно испитана. Зато је циљ овог истраживања био да се испитају токсичност и ефекти немодификованих (n)CNC, оксидованих (o)CNC и фосфонаних (p)CNC на диференцијацију и сазријевање дендритских ћелија поријеклом из моноцита периферне крви (MoDC). Након диференцијације у присуству CNC и анализе експресије CD14 и CD1a, показано је да CNC у нетоксичним концентрацијама инхибирају диференцијацију MoDC. oCNC су показали најјачи инхибиторни ефекат на диференцијацију MoDC, потом nCNC и pCNC. Ови резултати су корелирали са најслабијим капацитетом сазријевања MoDC третираних oCNC, након стимулације са LPS/IFN- γ . Поред тога, MoDC третиране nCNC и oCNC су показале већу експресију PD1-L, TGF- β и ILT-4 у поређењу са контролним MoDC, док MoDC третиране pCNC нису испојиле толерогени фенотип. За разлику од pCNC, nCNC и oCNC су смањиле капацитет MoDC да продукују IL-12p70, IL-1 β и IL-23, а овако третиране ћелије су производеле више IL-10. У сагласности са овим резултатима, MoDC третиране nCNC и oCNC су показале повећан капацитет индукције алореактивних Th2 ћелија и TGF- β -продукујућих CD4+CD25^{hi}FoxP3+ Treg ћелија, а смањен капацитет индукције IFN- γ -продукујућих Th1 ћелија у кокултури. Ови резултати указују на то да CNC могу индуковати толерогена својства MoDC, док фосфонанија CNC спречава такав ефекат, без утицаја на имуногени потенцијал MoDC.

Кључне речи: целулозни нанокристали, дендритске ћелије, регулаторне Т ћелије, транспорт лијекова

CELLULOSE NANOCRYSTALS IMPAIR THE DIFFERENTIATION OF HUMAN MONOCYTE-DERIVED DENDRITIC CELLS AND POTENTIATE THEIR TOLEROGENIC PROPERTIES

Milos Vasiljevic¹, Marina Bekic², Bojan Joksimovic¹, Dusan Mihajlovic^{1,3}, Marijana Milanovic³, Ivana Majstorovic³, Dragana Vucevic³, Sergej Tomic^{1,2}, Miodrag Colic^{1,2}

¹University of East Sarajevo, Medical Faculty Foca, R. Srpska, BiH

²University of Belgrade, Institute for Application of Nuclear Energy, Belgrade, Serbia

³University of Defence in Belgrade, Medical Faculty of the Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

ABSTRACT

Cellulose nanocrystals (CNC) are attractive nanomaterials with large surface area suitable for development of drug delivery and diagnostics systems. However, the biocompatibility and immunomodulatory properties of CNC have not been studied so far. Here we used wood-based native (n)CNC, -oxidized (o)CNC and phosphonated (p)CNC, to assess their toxicity and effects on differentiation and functions of human monocyte derived dendritic cells (MoDC) *in vitro*. We found that non-toxic concentrations CNC impair the differentiation of MoDC, according to CD14/CD1a co-expression analysis. oCNC displayed the strongest inhibitory effect on MoDC differentiation, followed by nCNC and pCNC, respectively. These results correlated with the weakest maturation capacity of oCNC-treated MoDC upon stimulation with LPS/IFN- γ . Additionally, nCNC- and oCNC-treated MoDC expressed higher levels of PD1-L, TGF- β and ILT-4 compared to control MoDC, whereas pCNC-treated MoDC showed no tolerogenic properties. The capacity of MoDC to produce higher levels of IL-12p70, IL-1 β , IL-23, and low levels of IL-10, were impaired by nCNC and oCNC, but not by pCNC. In line with this, nCNC- and oCNC-treated MoDC displayed an increased capacity to induce alloreactive Th2 cells, and TGF- β -producing CD4+CD25^{hi}FoxP3+ Treg cells, and a decreased capacity to induce IFN- γ -producing Th1 cells in co-culture. Cumulatively, these results suggest that CNC may induce tolerogenic properties in MoDC, whereas phosphonation of CNC prevents such an effect, thus restoring the immunogenic potential of MoDC.

Key words: cellulose nanocrystals, dendritic cells, regulatory T cells, drug delivery

ПРОЦЕНА СИСТЕМСКИХ ВРЕДНОСТИ ЦИТОКИНА КОД ПАЦИЈЕНАТА СА КОЛОРЕКТАЛНИМ КАРЦИНОМОМ СА И БЕЗ ТРОМБОЗЕ

Миодраг Јоцић¹, Невена Гајовић², Милена Јуришевић³, Марина Јовановић⁴,
Наташа Здравковић⁵, Небојша Арсенијевић⁶, Весна Вуковић Дејановић⁷, Вељко Марић⁸,
Бошко Милев⁹, Милан Јовановић¹⁰

¹Институт за трансфузиологију и хемодиологију, ВМА, Београд, Србија

²Центар за молекуларну медицину и истраживање матичних ћелија,
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Србија

³Клиника за клиничку фармакологију, Факултет медицинских наука,
Универзитет у Крајеву, Србија

⁴Клиника за интерну медицину, Факултет медицинских наука,
Универзитет у Крајеву, Србија

⁵Клиника за интерну медицину, Факултет медицинских наука,
Универзитет у Крајеву, Србија

⁶Центар за молекуларну медицину и истраживање матичних ћелија,
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву, Србија

⁷Институт за рехабилитацију, Београд, Србија

⁸Клиника за хирургију, Медицински факултет Фоча,
Универзитет Источно Сарајево, Босна и Херцеговина

⁹Клиника за општу и абдоминалну хирургију, ВМА, Београд, Србија

¹⁰Центар хитне помоћи, ВМА, Београд, Србија

САЖЕТАК

Увод. Реактивна тромбозитоза, као паранеопластични синдром, често се среће код оболелих од карцинома. Различити хуморални фактори и цитокини повезани са тумором доприносе повећаном стварању тромбоцита. Међутим, тачна улога ових цитокина у патогенези тромбозитозе није потпуно јасна. Циљ студије је био да се анализирају системске вредности цитокина и клиничко-патолошке карактеристике код оболелих од колоректалног карцинома са и без тромбозитозе. Методе. У истраживање је било укључено 59 болесника са колоректалним карциномом, подељених у две групе у зависности од броја тромбоцита. Анализирани су подаци по старости, полу, величини тумора, локализацији, метастазама, инвазији крвних или лимфних судова, нуклеарном градусу, степену хистолошке диференцијације, ТНМ стадијуму и серумским концентрацијама IL-1, IL-33, IL-12, IL-17 и IFN- γ код обе групе испитаника. Резултати. Оболели од колоректалног карцинома са тромбозитозом имали су значајно већи нуклеарни градус карцинома ($p=0,002$); већи проценат детектабилних метастатских лезија у јетри ($p=0,002$), плућима ($p=0,001$), карциноматозе перитонеума ($p = 0,001$), детектабилних инвазија крвних ($p=0,012$) и лимфних судова ($p=0,010$). Такође, код оболелих од колоректалног карцинома са тромбозитозом забележене су веће концентрације ту-

морских маркера (AFP, СЕА и СА 19-9) и серумских вредности IL-1 и IL-33. IL-1/IL-12 ($p=0,016$), IL-1/IFN- γ ($p=0,007$), IL-1/IL-17 ($p=0,006$), IL-33/IL-12 ($p=0,001$), IL-33/IFN- γ ($p=0,001$), IL-33/IL-17 ($p=0,002$), и IL-33/IL-1 ($p=0,006$) односи били су значајно већи код оболелих од колоректалног карцинома са тромбоцитозом у односу на оболеле од колоректалног карцинома без тромбоцитозе. Анализа РОС кривуље показује да се IL-1 (AUC = 0,718; 95% CI: 0,567–0,868; осетљивост 69,2%, специфичност 62,9%) и IL-33 (AUC = 0,763; 95% CI: 0,614–0,911; осетљивост 84,6%, специфичност 65,7%) могу користити као потенцијални маркери паранеопластичне тромбоцитозе код оболелих од колоректалног карцинома. Закључак. IL-1 и IL-33 значајно корелирају са бројем тромбоцита код болесника са агресивнијом формом колоректалног карцинома.

Кључне речи: колоректални карцином, тромбоцитоза, цитокини, интерлеукини

Рад је публикован: Jocić Miodrag, Gajović Nevena, Jurišević Milena, Jovanović Marina, Zdravković Nataša, Arsenijević Nebojšaa, Vuković-Dejanović Vesna, Marić Veljko, Milev Boško, Jovanović Milan. Colorectal carcinoma: Evaluation of systemic values of IL-1 and IL-33 in patients with and without thrombocytosis. *Vojnosanit Pregl* 2021; 78(6): 627–634. DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP190910110J> (IF: 0.168).

EVALUATION OF SYSTEMIC VALUES OF CYTOKINES IN COLORECTAL CARCINOMA PATIENTS WITH AND WITHOUT THROMBOCYTOSIS

Miodrag Jocić¹, Nevena Gajović², Milena Jurišević³, Marina M. Jovanović⁴, Nataša Zdravković⁵, Nebojša Arsenijević⁶, Vesna Vuković Dejanović⁷, Veljko Marić⁸, Boško Milev⁹, Milan Jovanović¹⁰

¹*Institute for Transfusiology and Haemobiology, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia*

²*Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

³*Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

⁴*Department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

⁵*Department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

⁶*Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

⁷*Institute for Rehabilitation, Belgrade, Serbia*

⁸*Department of Surgery, Faculty of Medicine, University of East Sarajevo, Foča, Bosnia and Herzegovina*

⁹*Clinic of general and abdominal surgery, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia*

¹⁰*Emergency Department, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia*

ABSTRACT

Introduction. Reactive thrombocytosis, as a paraneoplastic syndrome, is often observed in cancer patients. A variety of tumor-related humoral factors and cytokines contribute to tumor stimulated thrombopoiesis. However, the exact role of these cytokines in the pathogenesis of thrombocytosis remains unclear. The aim of this study was to analyze systemic values of cytokines and clinical-pathological characteristics in colorectal carcinoma (CRC) patients with and without thrombocytosis. **Methods.** Fifty nine CRC patients were involved in this study and divided into two groups according to the number of platelets. We recorded and analyzed the data about: age, gender, size of the cancer, localization, metastasis, vascular or lymph vessel invasion, nuclear grade, histological differentiation rate, TNM stage and concentration of IL-1, IL-33, IL-12, IL-17 and IFN- γ in both groups. **Results.** CRC patients with thrombocytosis had significantly higher nuclear grade of the cancer ($p=0.002$); higher percentage of detectable metastatic lesions in the liver ($p = 0.002$), lung ($p=0.001$), peritoneal carcinomatosis ($p=0.001$), detectable invasion of blood ($p=0.012$) and lymph vessels ($p=0.010$). Concentrations of tumor markers (AFP, CEA and CA 19-9) and serum values of IL-1 and IL-33 were significantly higher in CRC patients with thrombocytosis. IL-1/IL-12 ($p=0.016$), IL-1/IFN- γ ($p=0.007$), IL-1/IL-17 ($p=0.006$), IL-33/IL-12 ($p=0.001$), IL-33/IFN- γ ($p=0.001$), IL-33/IL-17 ($p=0.002$), and IL-33/IL-1 ($p=0.006$) ratios were significantly higher in CRC patients with thrombocytosis in comparison to CRC patients without thrombocytosis. Analysis of Receiver Operating Characteristic (ROC) curves showed that values of IL-1 (AUC = 0.718; 95% CI: 0.567–0.868; sensitivity 69.2%, spec-

ificity 62.9%) and IL-33 (AUC = 0.763; 95% CI: 0.614–0.911; sensitivity 84.6%, specificity 65.7%), could be serve as possible markers for paraneoplastic thrombocytosis in CRC patients. Conclusion. IL-1 and IL-33 significantly correlated to high thrombocyte number in patients with more aggressive CRC.

Key words: colorectal cancer, thrombocytosis, cytokines, interleukins

The paper is published: Jocić Miodrag, Gajović Nevena, Jurišević Milena, Jovanović Marina, Zdravković Nataša, Arsenijević Nebojšaa, Vuković-Dejanović Vesna, Marić Veljko, Milev Boško, Jovanović Milan. Colorectal carcinoma: Evaluation of systemic values of IL-1 and IL-33 in patients with and without thrombocytosis. *Vojnosanit Pregl* 2021; 78(6): 627–634. DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP190910110J> (IF: 0.168).

ЉУДСКЕ ИНДУКОВАНЕ ПЛУРИПОТЕНТНЕ МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ – АЛАТ ЗА РАЗУМЕВАЊЕ УТИЦАЈА ЗАГАЂЕЊА ЖИВОТНЕ СРЕДИНЕ НА ЉУДСКО ЗДРАВЉЕ

Миодраг Стојковић¹, Франциско Мануел Ортуњо Гузман², Петра Стојковић³, Хоакин Допазо²,
Константина М Станковић⁴

¹СПЕБО Медикал, 16000 Лесковац, Србија

²Биоинформатичка област, Андалузијска јавна фондација Пројрес и здравље-ФПС,
Севиља, 41013, Шпанија

³Клиника Флешинселн, Хамбур, Немачка

⁴Ојололаринџологија - хирургија главе и врати, Медицински факултет Универзитета Сјанфорд,
Пало Алто, Калифорнија, САД

САЖЕТАК

Загађење пластиком расте алармантном брзином, али је утицај овог загађења на људско здравље слабо схваћен. Пошто је кожа у директном контакту са загађивачима, плурипотентне матичне ћелије (ПСЦ) добијене из дермалних фибробласта нуде моћну платформу за почетак идентификације молекуларних биомаркера које загађена животна средина изазива у људским ћелијама. Због тога смо ПСЦ изложили ниским и високим концентрацијама полистиренских наночестица а транскриптомски и епигеномски записе фибробласта и ПСЦ-а дефинисали коришћењем РНА-секвенције и ДНК метил-секвенције целокупног генома. Подаци су анализирани коришћењем алгорита механичког моделирања ХиПатхиа и интегративног тока рада МИГНОН. Позиве за мапирање и метилацију обавио је Бисмарк са истом референцом хг38 код људи. Диференцијално метиловани региони су идентификовани помоћу Р-пакета дмрсек. И фибробласти и ПСЦ су показали промене у генима и специфичним круговима *ЕСРРБ* и *ХНФ1А* укључени у плурипотенцију матичних ћелија, као и на путеве који утичу на настајање рака, инфламаторних поремећаја, глуконеогенезу, урођени имунитет и допамин синапсе. Такође, ПСЦ изложени ниској концентрацији полистирена показале су измењене метилацију ДНК и транскриптомске профиле. Зато овај систем нуди робусну платформу не само за деривацију нових и специфичних ПСЦ-а линија, већ и за проучавање раних геномских и епигеномских промена. Штавише, ова студија је доказ о концепту који илуструје моћ људских ПСЦ као модел за испитивање загађења животне средине како би се сузили и приоритизовали кандидата за молекуларне биомаркере и окидаче болести. Ови резултати и модел знатно олакшавају дешифровање и указују на порекло болести које су до сада биле непознатог порекла.

Кључне речи: нанопластика, плурипотентне матичне ћелије, секвенцирање РНК, метилација ДНК, болести

Истраживање је финансирано средствима: Комплетна студија је урађена у „Масачусетс болници за око и ухо”, Харвард, Бостон, Америка.

HUMAN INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS – TOOL TO UNDERSTAND THE IMPACTS OF ENVIRONMENTAL POLLUTION ON HUMAN HEALTH

Miodrag Stojkovic¹, Francisco Manuel Ortuño Guzmán², Petra Stojkovic³, Joaquin Dopazo²,
Konstantina M Stankovic⁴

¹*SPEBO Medical, 16000 Leskovac, Serbia*

²*Bioinformatics Area, Andalusian Public Foundation Progress and Health-FPS, Sevilla, 41013, Spain*

³*IVF clinic Fleetinsel, Hamburg, Germany*

⁴*Otolaryngology - Head & Neck Surgery, Stanford University School of Medicine, Palo Alto, California, USA*

ABSTRACT

Plastic pollution is increasing at an alarming rate yet the impact of this pollution on human health is poorly understood. Since skin is in direct contact with pollutants, human induced pluripotent stem cells (hiPSC) derived from dermal fibroblasts offer a powerful platform to start to identify molecular biomarkers of environmental pollution in human cells. Therefore, we exposed hiPSC with low and high concentrations of polystyrene (PS) nanoparticles. Transcriptomic and epigenomic signatures of all fibroblasts and hiPSCs were defined using RNA-seq and whole genome methyl-seq, respectively. Data were analyzed using the mechanistic modeling algorithm HiPathia and the integrative workflow MIGNON. Mapping and methylation calls were performed by Bismark with the same hg38 human reference. Differentially Methylated Regions were identified by the R-package dmrseq. Both fibroblasts and derived hiPSC showed alterations in *ESRRB* and *HNF1A* genes involved in the pluripotency of stem cells, as well as in pathways involved in cancer, inflammatory disorders, gluconeogenesis, innate immunity, and dopaminergic synapse. This system offers a controllable and robust platform to derive novel and specific hiPSC, and to study the resultant early genomic and epigenomic changes. Furthermore, this proof-of-concept study illustrates the power of human cellular models of environmental pollution to narrow down and prioritize the list of candidate molecular biomarkers and origins of environmental diseases.

Key words: pollution, nanoplastics, human induced pluripotent stem cells, RNA sequencing, DNA methylation, human diseases

Funding: The whole study was done at “Massachusetts Eye and Ear Infirmery”, Harvard Medical, Boston, USA.

ИМУНОМОДУЛАЦИЈСКА СВОЈСТВА НАНОЧЕСТИЦА ЗЛАТА

Миодраг Чолић

*Српска академија наука и уметности, Р. Србија
Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву,
Република Српска, Босна и Херцеговина*

САЖЕТАК

Повећана изложеност организама различитим наноматеријалима неизбежно изазива забринутост за њихову безбедност, обзиром да до сада нису дефинисани јасни критеријуми биокомпатибилности за наноматеријале. Наночестице злата (НЗ) су пример брзе експанзије примене наночестица у биомедицини упркос недостатку свеобухватног разумевања њихове токсичности и утицаја на компоненте имунског система. Због тога истраживања интеракција између НЗ и имунског система може предвидети не само потенцијалне штетне ефекте већ и обезбедити најбоље начине за побољшање њихове терапеутске ефикасности контролом имунског одговора. Имунобиолошки ефекти НЗ у великој мери варирају у зависности од физичко-хемијских својстава НЗ и модела који се у истраживању користи. Због тога су потребни како рационални приступи синтези/функционализацији НЗ, тако и детаљна имунолошка истраживања у циљу селекције НЗ које могу да остваре жељене функције истовремено поспешујући корисне ћелијске или ткивне реакције. Овај рад разматра до сада познате податке о физичко-хемијским својствима, биомедицинској примени и биокомпатибилности НЗ, посебно о њиховој интеракцији са компонентама урођеног имунског система, пошто су то критични параметри за њихову безбедну садашњу и будућу примену. Наша истраживања су усмерена ка имуномодулаторној улози НЗ кроз њихов ефекат на моноците, интеракцију дендритских ћелија/Т ћелија и мијелоидне супресорске ћелије. Имуномодулаторна својства НЗ, укључујући продукцију про- и анти-инфламаторних цитокина и индукцију Т регулаторних ћелија, у великој мери зависе од њихове величине и стабилизирајућих агенаса који се користе за дисперзију/функционализацију НЗ. Разматрају се могући механизми укључени у ове процесе што опредељује избор НЗ за терапију тумора или аутоимунских болести.

Кључне речи: Наночестице злата, имуномодулација, урођена имуност, цитокини, терапија

Публиковано је више радова.

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја, Р.Србија; Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву.

IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF GOLD NANOPARTICLES

Miodrag Čolić

*Serbian Academy of Sciences and Arts, Belgrade, Serbia
Medical Faculty Foča, University of East Sarajevo, Foča, Bosnia and Herzegovina*

ABSTRACT

Increasing exposure of organisms to various nanomaterials inevitably raises concerns about their safety, especially since no clear biocompatibility criteria have been defined for nanomaterials so far. Gold nanoparticles (GNPs) are a clear example of their rapid expansion in biomedical applications, together with a lack of comprehensive understanding of GNPs' biocompatibility, especially their effects on components of the immune system. Exploring the interactions between GNPs and the immune system can predict potential adverse effects upon their application, and provide meaningful ways to improve GNPs' therapeutic efficacy by controlling the immune response following their application. The reported immunological effects of GNPs vary greatly depending on the physicochemical properties of GNPs and the immunological study model being used. Therefore, both rational approaches to GNPs' synthesis/functionalization and detailed immunological investigations are required for the selection of GNPs that can perform the desired functions by simultaneously inducing beneficial cellular or tissue responses. Here, recent data on the physicochemical properties, biomedical applications, and biocompatibility of GNPs are reviewed, especially on their interactions with components of the innate immune system, as these are critical parameters for their safe and prospective application in biomedicine. Our research is directed to the immunomodulatory role of GNPs through their effects on monocytes, dendritic cells (DCs)/T cells interaction, and myeloid-derived suppressor cells (MDSCs). The immunomodulatory properties of GNPs, including the production of pro-and anti-inflammatory cytokines and induction of T regulatory cells, are largely dependent on their size and the stabilization agents used for their dispersion/functionalization. Possible mechanisms involved in these processes are discussed, which dictate the choice of GNPs for the therapy of tumors or autoimmune diseases.

Key words: Gold nanoparticles, immunomodulation, innate immunity, cytokines, therapy

Several papers are published.

Funding: Ministry for Education, Science and Technological Development, R.Serbia; Medical Faculty Foča, University of East Sarajevo, The Republic of Srpska, BiH.

РЕЗУЛТАТИ ПРИМЈЕНЕ ИМУНОТЕРАПИЈЕ У ЛИЈЕЧЕЊУ МЕТАСТАТСКОГ МЕЛАНОМА У ЦРНОЈ ГОРИ

Нада Цицмил-Сарић¹, Сања Лекић¹, Никола Милашевић¹, Салмин Салковић¹,
Ваља Карађиновић¹ и Мирјана Бакић¹

¹Онколошки институт, Подгорица; Клиника за дерматовенерологију КЦЦГ

САЖЕТАК

Историјски гледано, до прије десет година, нигдје у свијету није постигнут никакав напредак у лијечењу метастатског меланом, а mOS је била мања од једне године. Циљане терапије у моно и у облику дублета (BRAF и MEK инхибитори), као и имунотерапија (анти CTA-L4, анти PD, анти PDL1 и анти PDL2 агенси, појединачно и у комбинацији), као „standard of care“, резултирали су дуготрајним преживљавањем, па је петогодишње OS данас чак изнад 50%. Овдје анализирамо RWD примјене имунотерапије код 48 болесника који су у периоду од 1.1.2018, до 31.12.2021. лијечени на Онколошком институту у Подгорици. Већина болесника је терапију примила у првој линији лијечења. Највећи број лијечених је постигао статус стабилизације болести. Имунотерапија је била једнако ефикасна код оба пола и без обзира на BRAF статус. Много бољи терапијски резултат су имали пацијенти који нису имали метастазе у плућима и они који су примили више од двадесет циклуса имунотерапије. Код једанаест пацијената су регистровани споредни ефекти лијечења: само код једног пацијента нежељено дејство градусу четири.

Благовремена регистрација иновативних лијекова и њихова доступност на Листи Фонда здравства Црне Горе, омогућила је у свијету реалних података наше клиничке праксе потврду резултата рандомизованих регистрационих клиничких трајала: како у погледу ефикасности, тако и у погледу безбједности примјене имунотерапије.

Кључне ријечи: метастатски меланом, имунотерапија, mOS

RESULTS OF IMMUNOTHERAPY IN THE TREATMENT OF METASTATIC MELANOM IN MONTENEGRO

Nada Cicmil-Saric¹, Sanja Lekic¹, Nikola Milasevic¹, Salmin Salkovic¹,
Vanja Karadjinovic¹, Mirjana Bakic¹

¹*Institute of Oncology, Podgorica; Dermatovenerological Clinic KCCG*

ABSTRACT

Historically, until ten years ago, no progress has been made anywhere in the world in the treatment of metastatic melanoma, and mOS has been less than 1 year. Targeted therapies in mono and combination form (BRAF and MEK inhibitors), as well as immunotherapy (anti CTA-L4, anti PD, anti PDL1 and anti PDL2 agents, individually and in combination), AS A “standard of care” have resulted in long-term survival in these patients so that five-year OS today even above 50%. Here we analyze the RWD of immunotherapy applications in 48 patients who are from 1.1.2018. to 31.12.2021. treated at the Oncology Institute in Podgorica. Most patients received immunotherapy in the first line of therapy. Most of those treated achieved disease stabilization status. Immunotherapy was equally effective in both sexes and regardless of BRAF status. Patients who did not have lung metastases and those who received more than twenty cycles of therapy had a much better therapeutic result. Eleven patients reported side effects of treatment : in only one patient, grade 4 adverse reactions. Timely registration of innovative drugs and their availability on the list of the Health Fund of Montenegro, enabled in the world of data of our real clinical practice, confirmation of the results of randomized registrations lasted both in terms of their effectiveness and safety.

Key words: metastatic melanoma, immunotherapy, mOS

УЛОГА TP53 И PTEN ТУМОР СУПРЕСОР ГЕНА У ОДГОВОРУ НА РАЗЛИЧИТЕ МОДАЛИТЕТЕ ТЕРАПИЈЕ КАНЦЕРА ДОЈКЕ

Никола Танић¹, Татјана Драмићанин², Тијана Томић², Нејла Адемовић¹,
Благоје Мурганић², **Наста Танић²**

¹Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“,
Институт од националне значаја за Републику Србију, Београд, Република Србија

²Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке „Винча“, Институт од националне
значаја за Републику Србију, Винча, Република Србија

САЖЕТАК

Рак дојке је најчешћи тип малигнитета и водећи узрок смрти од канцера код жена широм света. Више од 70% свих дијагностикованих инвазивних карцинома дојке експримира стероидне рецепторе и као такви су подобни за ендокрину терапију. Канцер дојке је изузетно хетерогена болест и стога су неопходни различити модалитети лечења да би се превазишле ове разлике. Циљ нашег истраживања био је да се испита утицај инактивације TP53 и PTEN тумор супресорских гена (ТСГ) у одговору на различите модалитете лечења на постоперативним узорцима карцинома дојке. Са тим циљем пацијенткиње су класификоване, на основу примењене ађувантне терапије, у четири различите групе: оне које су примале само хормонску терапију (ХТ), хормонску терапију у комбинацији са хемиотерапијом (ХТ/ЦХТ), хормонску терапију у комбинацији са хемиотерапијом и биолошком терапијом (ХТ) /ЦХТ/Х) и друге системске терапије које искључују ХТ (на пример ЦХТ или Х). Функционална инактивација TP53 и PTEN тумор супресора је студирана анализом мутационог статуса, губитка хетерозиготности (ЛОХ) и анализом метилационог статуса. Наши резултати су показали да је TP53 ген измењен код 63 од 90 узорака (70%), док је учесталост промена PTEN гена била нешто нижа, 54 од 90 (60%) пацијената је имало инактивирани PTEN. Симултана инактивација је детектована у 43 тестирана узорка (48%) са значајном повезаношћу инактивације два анализирана тумор супресор гена.

Даље, показали смо да статус TP53 има значајан утицај на одговор пацијената на терапију. Пацијенти са дивљим типом (wt) TP53 показују значајно бољи терапијски одговор без обзира на врсту терапије, у поређењу са носиоцима измењеног TP53. У прилог овоме показали смо да су хормонски лечене жене са интактним (wt) TP53 геном имале значајно већу стопу преживљавања ($p=0,000001$) у поређењу са: (1) женама леченим хормонском терапијом са аберантним TP53 геном, (2) женама са интактним (wt) TP53 подвргнутим било којој од преостале три

терапијске комбинације, и (3) женама са измењеним TP53 које припадају другој (ХТ/ЦХТ), трећој (ХТ/ЦХТ/Х) или четвртој (системска терапија која искључује ХТ) терапијској групи. Супротно овоме, нисмо утврдили значајну асоцијацију између мутационог статуса ПТЕН-а и различитих модалитета лечења. Међутим, утврђена је значајна повезаност између врсте примењене терапије и истовремених промена ова два тумор супресор гена ($p=0,00001$).

Кључне речи: канцер дојке, терапија, TP53, ПТЕН

Истраживање је финансирано средствима: Министарство просвете, науке и технолошког развоја, евиденциони број 451-03-9/2021-14/ 200007.

THE ROLE OF TP53 AND PTEN TUMOR SUPPRESSOR GENES IN RESPONSE TO DIFFERENT BREAST CANER TREATMENT MODALITIES

Nikola Tanić¹, Tatjana Dramićanin², Zorka Milovanović³, Milica Nedeljković³, Tijana Tomić², Neja Ademović¹, Blagoje Murganić², **Nasta Tanić**²

¹*University of Belgrade, Institute for Biological Research "Siniša Stanković",
National Institute of Republic of Serbia, Belgrade, Republic of Serbia*

²*Institute of Nuclear Sciences "Vinča", University of Belgrade, National Institute of Republic of Serbia,
National Institute of Republic of Serbia, Vinča, Republic of Serbia.*

³*Institute for Oncology and Radiology of Serbia, Pasterova 14, Belgrade, Republic of Serbia*

ABSTRACT

Breast cancer (BC) is the most frequent type of malignancy and the leading cause of cancer related death among women worldwide. More than 70% of all diagnosed invasive BCs express steroid receptors and, as such, are subjected to endocrine therapy. BC is exceptionally heterogeneous disease and therefore distinct treatment modalities are necessary to address these differences. The aim of our study was to investigate the impact of TP53 and PTEN tumor suppressor genes (TSGs) inactivation on BC response to different treatment modalities, as well as, their possible cooperation, on post-operative BC samples. To that end the patients were classified, based on applied adjuvant therapy, into four distinct groups: those that received hormonal therapy (HT) only, hormonal therapy combined with chemotherapy (HT/CHT), hormonal therapy combined with chemo and biological therapy (HT/CHT/H), and other systemic therapies that exclude HT (for example CHT or H). Functional inactivation of TP53 and PTEN TSGs were studied by mutation, loss of heterozygosity (LOH) and hypermethylation analysis. Our results revealed that TP53 gene was altered in 63 out of 90 specimens (70%), while the frequency of PTEN alterations was slightly lower, 54 out of 90 (60%) patients had inactivated PTEN. Simultaneous inactivation was detected in 43 tested samples (48%) with significant association between two analyzed TSGs. Further, we found that TP53 status has significant influence on patients' therapy response. Patients with wild type TP53 show significantly better therapy response regardless of the type of therapy, compared to carriers of altered p53 gene. In support of this we showed that hormonally treated women with intact (wt) TP53 gene had significantly longer survival rate ($p=0.000001$) when compared to: (i) hormonally treated women with aberrant TP53 gene, (ii) women with intact (wt) p53 subjected to any of remaining three therapy combinations, and (iii) women with altered TP53 that belong to second (HT/CHT), third (HT/CHT/H) or fourth (systemic Th that exclude HT) therapy group. Contrary to this, no significance was found between mutational

status of PTEN and various treatment modalities. However, significant association was found between the type of applied therapy and simultaneous alterations of these two TSGs ($p=0.00001$).

Key words: breast cancer, therapy, TP53, PTEN

Funding: Ministry of Education, Science and Technological Development, Republic of Serbia, Registration number: 451-03-9/2021-14/200017, Research Theme “Molecular alterations as prognostic and predictive markers in human malignant tumors” - 0802103

УТИЦАЈ ЦЕНТРАЛНЕ ЛИМФНЕ ДРЕНАЖЕ НА ПРОЦЕНАТ И БРОЈ ЋЕЛИЈА ИМУНСКОГ СИСТЕМА У ПЕРИФЕРНОЈ КРВИ И СЛЕЗИНИ И ЊИХОВ ФЕНОТИП

Наталиа Соловјова¹, Јелена Миловановић^{2,3}, Бојана Стојановић^{2,4}, Драгана Арсенијевић^{2,5}, Јелена Димитријевић^{2,6}, Жељко Тодоровић^{2,7}, Александар Арсенијевић², Небојша Арсенијевић², Марија Миловановић²

¹АССБ одсек Висока Здравствена Школа сѝруковних сѝудија

²Центар за молекулску медицину и истраживање мајичних ћелија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

³Капедра за хистологију и ембриологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁴Капедра за патолошку физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁵Капедра за фармацију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁶Капедра за медицинску статистику и информатику

⁷Капедра за Интерну медицину

САЖЕТАК

Лимфни систем континуирано обавља транспорт течности, леукоцита, протеина, масти и других продуката метаболизма. Пошто пражњење централног дела лимфног система стимулише пражњење периферних делова лимфног система, централна лимфна дренажа би требало да подстакне слободан ток лимфе у целом лимфном систему, а обухвата мануелну интервенцију помоћу које се могу дијагностиковати, лечити и спречити болести или повреде. Циљ рада је да испита како централна лимфна дренажа мишева утиче на прераспodelу ћелија имунског система у слезини у крви. Коришћени су мишеви С57BL/6 соја мушког пола, експерименталној групи је урађена централна лимфна дренажа, а мишевима у контролној групи није рађена никаква интервенција. Након интервенције су сви мишеви жртвовани и проточном цитометријом је анализарана процентуална заступљеност и фенотип ћелија изолованих из слезине и периферне крви. Централна лимфна дренажа повећава апсолутни број ћелија у периферној крви, али значајно смањује процентуалну заступљеност CD4+CD3+ и CD8+CD3+ лимфоцита, моноцита и неутрофила, а не утиче на заступљеност В лимфоцита, НК и НКТ ћелија у крви. Такође централна лимфна дренажа повећава укупан број мононуклеарних ћелија у слезини и статистички значајно повећава проценат имуносупресивних ћелија. У слезини мишева којима је урађена централна лимфна дренажа значајно је већи проценат и апсолутни број мијелоидних супоресорских ћелија и CD11b+ и CD8+ ћелија које експримирају антиинфламацијски цитокин

PL-10. Резултати указују да би централна лимфна дренажа индукција имуносу-пресивне средине у лимфним органима могла да утиче на ток акутних и хроничних инфламацијских болести.

Кључне речи: централна лимфна дренажа, периферна крв, слезина, број ћелија

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ОИ175069).

IMPACT OF CENTRAL LYMPHATIC DRAINAGE ON THE PERCENTAGE AND NUMBER OF IMMUNE CELLS IN PERIPHERAL BLOOD AND SPLEEN AND THEIR PHENOTYPE

Natalia Solovjova¹, Jelena Milovanovic^{2,3}, Bojana Stojanovic^{2,4}, Dragana Arsenijevic^{2,5},
Jelena Dimitrijevic^{2,6}, Zeljko Todorovic^{2,7}, Aleksandar Arsenijevic²,
Nebojsa Arsenijevic², Marija Milovanovic²

¹ASSB Department of Higher Medical School of Vocational Studies

²Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences,
University of Kragujevac

³Department of Histology and Embryology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁴Department of Pathological Physiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁵Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁶Department of Medical Statistics and Informatics

⁷Department of Internal Medicine

ABSTRACT

The lymphatic system continuously transports fluids, leukocytes, proteins, fats and other metabolic products. Since central lymphatic drainage stimulates peripheral lymphatic drainage, it should promote free lymph flow throughout the lymphatic system and include manual intervention to diagnose, treat, and prevent disease or injury. The aim of this study was to investigate how central lymphatic drainage of mice affects the redistribution of immune system cells in the spleen and also in the blood. Male C57BL/6 mice were used, central lymphatic drainage was performed in the experimental group, while no intervention was performed on the mice in the control group. After the intervention, all mice were sacrificed and the percentage and phenotype of cells isolated from the spleen and peripheral blood were analyzed by flow cytometry. Central lymphatic drainage increases the absolute number of cells in the peripheral blood, but significantly reduces the percentage of CD4+CD3+ and CD8+CD3+ lymphocytes, monocytes and neutrophils, and does not affect the percentage of B lymphocytes, NK and NKT cells in the blood. Also, central lymphatic drainage increases the total number of mononuclear cells in the spleen and statistically significantly increases the percentage of immunosuppressive cells. Significantly higher percentage and absolute number of myeloid suppressor cells and CD11b+ and CD8+ cells that express the anti-inflammatory cytokine IL-10 has been detected in the spleen of mice with central lymphatic drainage. The results indicate that central lymphatic drainage could induce an immunosuppressive environment in the lymph organs to affect the course of acute and chronic inflammatory diseases.

Key words: central lymphatic drainage, peripheral blood, spleen, cell number

Funding: The research was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (O1175069) and bilateral project with the People's Republic of China (06/2018).

БИОМАРКЕРИ КАО ОСНОВА ЗА ПРЕЦИЗНУ ПАРОДОНТОЛОГИЈУ

Наташа Пејчић, Миа Ракић, Неда Перуновић,
Борис Ђуран, Јована Вуковић, Данило Војводић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

САЖЕТАК

Циљеви: Болести потпорног апарата зуба спадају међу најчешћа оболења и представљају велики јавноздравствени проблем који се односи на све већу преваленцију и озбиљне негативне социоекономске утицаје. Пародонтална дијагноза је основа успешне пародонтолошке стратегије, јер планови превенције и лечења зависе од тачности и прецизности одговарајуће дијагностике. Пародонтална дијагностика се и даље заснива на клиничким и радиолошким параметрима који дају ограничено терапијско упутство због мултифакторске сложености пародонталне патологије. Будући да основу прецизне медицине представљају биомаркери, који се не примењују рутински у клиничкој пракси, наш рад је имао за циљ да испита примену приступа прецизне медицине у пародонтологији. Методологија: Претражене су научне базе података. У обзир се узимају радови објављени у последњих десет година. Ово истраживање је обухватило 55 радова који су испуњавали задате критеријуме претраге. Резултати: Инфламаторне биомаркере у пародонтологији представљају про- и антиинфламаторни цитокини, ензими и маркери оксидативног стреса. Маркери меког ткива се користе за праћење деградације и регенерације меких ткива, а матрикс металопротеиназе и фактори раста су маркери који се највише користе у пародонтологији. Хистопатолошки маркери се не користе рутински у пародонтолошкој дијагнози, али могу пружити важне информације о природи болести, степену прогресије, као и у вези са валидацијом биомаркера најпогоднијих за свакодневну употребу у клиничком окружењу. Закључак: Прецизна пародонтологија несумњиво представља будућност висококвалитетне пародонталне неге, па је од највеће важности да будућа истраживања да стриктно поштују препоруке за валидацију биомаркера како би се убрзао процес њихове примене у рутинској клиничкој пракси.

Кључне речи: пародонтитис, биомаркери, прецизна медицина, дијагноза, персонализована медицина.

Рад је публикован: Rakic M, Pejcic N, Perunovic N, Vojvodic D. A Roadmap towards Precision Periodontics. *Medicina* (Kaunas). 2021 3;57(3):233. doi: 10.3390/medicina57030233.

Истраживање је финансирано средствима: Ову студију подржали су Министарство просвете и науке Републике Србије, Београд, Србија (референца пројекта 41008)

BIOMARKERS AS A BASIS FOR PRECISION PERIODONTICS

Natasa Pejčić, Mia Rakić, Neda Perunovic, Boris Djuran,
Jovana Vukovic, Danilo Vojvodić

Faculty of Dentistry, University of Belgrade, Serbia

ABSTRACT

Objectives: Periodontitis is among the most common health conditions and represents a major public health issue related to increasing prevalence and seriously negative socioeconomic impacts. Periodontal diagnosis is the backbone of a successful periodontal strategy, since prevention and treatment plans depend on the accuracy and precision of the respective diagnostics. Periodontal diagnostics is still founded on clinical and radiological parameters that provide limited therapeutic guidance due to the multifactorial complexity of periodontal pathology. Since the driving forces of precision medicine are represented by biomarkers, with the lack of periodontal markers validated for diagnostic use, we would like to evaluate the implementation of a precision medicine approach in periodontology. **Methodology:** Scientific databases were searched. Papers published in the last ten years are taken into account. This research included 55 papers that met the given search criteria. **Results:** The inflammatory biomarkers in periodontology are represented by pro- and anti-inflammatory cytokines, host-derived enzymes, and markers of oxidative stress. Soft tissue markers are used for monitoring soft tissue degradation and regeneration, and matrix metalloproteinases and growth factors are the most repurposed markers used in periodontology. Histopathological markers are not routinely used in periodontal diagnosis, but they may provide important information regarding the disease's nature, pattern of progression, and grade and related to the validation of biomarkers most suitable for everyday use in the clinical setting. **Conclusion:** Precision periodontics undoubtedly represents the future of high-quality periodontal care, so it is of paramount importance that future research studies strictly adhere to the recommendations for the validation of biomarkers in order to accelerate the process of their implementation in routine clinical practice.

Key words: periodontitis, biomarkers, precision medicine, diagnosis, personalized medicine

The paper is published: Rakic M, Pejicic N, Perunovic N, Vojvodic D. A Roadmap towards Precision Periodontics. *Medicina (Kaunas)*. 2021 3;57(3):233. doi: 10.3390/medicina57030233.

Funding: This study was supported by the Ministry of Education and Science, Republic of Serbia, Belgrade, Serbia (project references 41008).

ГАЛЕКТИН-3 КАО ВАЖАН ПРОГНОСТИЧКИ МАРКЕР У COVID-19

Невена Гајовић¹, Софија Секулић², Милена Јуришевић³, Марина М. Јовановић⁴,
Небојша Арсенијевић¹, Жељко Мијаиловић², Марина Јовановић⁵, Анђела Петровић¹,
Слободан Јаковљевић⁶, Иван Јовановић¹

¹Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука,
Центар за молекулску медицину и израживање мајичних ћелија

²Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за инфективне болести

³Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за клиничку фармацију

⁴Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за интерну медицину

⁵Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за оториноларингологију

⁶Универзитетски клинички центар Крајевац, Србија, Клиника за хирургију

САЖЕТАК

Галектин-3 је мултифункционални протеин и игра важну улогу у регулацији инфламације, инфекције и фиброзе. Повећан ниво Gal-3 откривен је код тешких облика COVID-19. Циљ студије је био да се утврди повезаност Gal-3 и специфичности имунског одговора, клиничких, биохемијских и радиографских налаза са тежином COVID-19. Студија је обухватила 280 пацијената оболелих од COVID-19 који су класификовани према тежини болести у благу, умерену, тешку и критичну групу. Анализирани су цитокини, клинички, биохемијски, радиографски подаци као и ћелије имунског система у периферној крви. Клинички исходи, лабораторијски налази и рендгенски налаз плућа показали су статистички значајну разлику између дефинисаних група. Пацијенти у критичној групи имали су значајно већи ниво Gal-3, интерлеукина-1 β , фактора туморске некрозе α , интерлеукина-12 и интерлеукина-10 у серуму у поређењу са пацијентима у лакшим стадијумима болести. Јака позитивна корелација је откривена између Gal-3 и интерлеукина 1 β , умерена позитивна корелација између Gal-3 и TNF- α и IL-12, умерена негативна корелација између Gal-3 и IL-10/IL-1 β и IL-10/TNF- α . Детектована је умерена позитивна корелација између Gal-3 и урее, D димера и рендгенског налаза. Јака негативна корелација је измерена између Gal-3 и pO₂, SaO₂ и умерена негативна корелација између Gal-3 и процента лимфоцита и моноцита. У периферној крви пацијената са тежим стадијумима COVID-19 открили смо значајно повећане проценте CD56⁺CD3⁺TNF- α ⁺T и CD56⁺CD3⁺Gal-3⁺T ћелија и повећану експресију CCR5 на моноклеарним ћелијама у периферној крви. Наши резултати указују да је Gal-3 важан маркер за критични стадијум COVID-19. Већа експресија Gal-3, TNF- α и CCR5 на Т лимфоцитима имплицира на подстицање инфламације и тежи облик болести.

Кључне речи: Галектин-3, COVID-19, CCR5, тежина болести

Истраживање је финансирано средствима: пројекта Фонда за науку Републике Србије (СИБИРС), пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја (175069), билатералног пројекта са народном републиком Кином (06/2018).

GALECTIN-3 AS AN IMPORTANT PROGNOSTIC MARKER IN COVID-19

Nevena Gajovic¹, Sofija Sekulic², Milena Jurisevic³, Marina Jovanovic⁴, Nebojsa Arsenijevic¹, Zeljko Mijailovic², Marina M. Jovanovic⁵, Andjela Petrovic¹, Slobodan Jakovljevic⁶, Ivan Jovanovic¹

¹University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences,
Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research

²University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Infectious disease

³University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Clinical pharmacy

⁴University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Internal medicine

⁵University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Otorinolaringology

⁶ University Clinical Center Kragujevac, Serbia, Department of Surgery

ABSTRACT

Galectin-3 is multifunctional protein and plays important roles in regulation of the inflammatory response, infection and fibrosis. Increased level of Gal-3 was detected in severe forms of COVID-19. The goal of study was to determine the association of Gal-3 and specificity of the immune response, clinical, biochemical, and radiographic findings with COVID-19 severity. The study enrolled 280 COVID-19 patients who were classified according to disease severity into mild, moderate, severe and critical group. Cytokines, clinical, biochemical, radiographic data and peripheral blood immune cell make up were analyzed. Clinical outcomes, laboratory findings and Chest X-rays lung findings reached statistically significant difference between defined groups. Patients in critical group had significantly higher serum level of Galectin-3, Interleukin-1 β , tumor necrosis factor α , Interleukin-12 and Interleukin-10 compared to the patients in less severe stages of disease. Strong positive correlation was detected between Galectin-3 and Interleukin 1 β , moderate positive correlation between Galectin-3 and TNF- α and IL-12, moderate negative correlation between Gal-3 and IL-10/IL-1 β and IL-10/TNF- α . Moderate positive correlation was detected between Gal-3 and urea, D dimer CXR findings. Strong negative correlation was noted between Gal-3 and pO₂, SaO₂ and moderate negative correlation between Gal-3 and lymphocyte and monocyte percentage. In the peripheral blood of patients with more severe stages of COVID-19 we detected significantly increased percentages of CD56⁻CD3⁺TNF- α ⁺T cells and CD56⁻CD3⁺Gal-3⁺T cells and increased expression of CCR5 in PBMCs. Our results predict Galectin-3 as an important marker for critical stage of COVID-19. Higher expression of Galectin-3, TNF- α and CCR5 on T cells implicate on promoting inflammation and more severe form of disease.

Key words: galectin-3, COVID-19, CCR5, disease severity

Funding: This work was supported by a grant from the Science Fund of the Republic of Serbia (CIBIRDS), Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (175069), project with PR China (06/2018).

ТЕРАПИЈСКА ПРИМЕНА ВИТАМИНА С СМАЊУЈЕ ПРОГРЕСИЈУ ОРАЛНОГ СКВАМОЦЕЛУЛАРНОГ КАРЦИНОМА КОД МИШЕВА

Невена Лађевац¹, Драгана Арсенијевић^{1,2}, Владимир Марковић¹, Бојана Симовић Марковић¹,
Јелена Димитријевић^{1,3}, Бојана Стојановић^{1,4}, Жељко Тодоровић^{1,5}, Небојша Арсенијевић¹,
Марија Миловановић¹, Александар Арсенијевић¹, Јелена Миловановић^{1,6}

¹ Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија,
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

² Катедра за фармацију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

³ Катедра за медицинску статистику и информатику

⁴ Катедра за патолошку физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

⁵ Катедра за интерну медицину, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

⁶ Катедра за хистологију и ембриологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

САЖЕТАК

Витамин С смањује раст различитих тумора, *in vitro* и *in vivo* и подстиче анти-туморски имунски одговор. Осим једне *in vitro* студије спроведене на линији хуманог оралног сквамоцелуларног карцинома (ОСЦК), CAL-27, у којој је показано да витамин С индукцијом формирања реактивних једињења кисеоника убија ове ћелије и да смањује раст ксенотрансплантата CAL-27 ћелија код имунодефицијентних мишева, нема никаквих података о могућем анти-туморском деловању витамина С у ОСЦК. Циљ ове студије је испитивање потенцијалног терапијског ефекта витамина С у моделу ОСЦК изазваном код BALB/c женки оралном применом 4-нитрохиолин-1-оксида, 20 недеља. Експерименталне групе су примале витамин С, интрапериотенално сваки дан у току четири недеље и то од 20. недеље од почетка примене 4-нитрохиолин-1-оксида; а цисплатину три пута недељно у току те четири недеље. Добијени резултати указују да витамин С примењен терапијски значајно смањује број туморских лезија по језику. Такође витамин С примењен у комбинацији са цисплатином појачава анти-туморски ефекат цисплатине. Међу групама нема разлике у проценту CD3+ лимфоцита међу мононуклеарним ћелијама изолованим из језика анализираних проточном цитометријом, али је у групама мишева третираних витамином С значајно већи проценат CD3+ лимфоцита који експримирају инхибиторне молекуле CTLA-4 и PD1 у поређењу са контролном групом и групом мишева која је примала само цисплатину. Процент CD45-PDL1+ ћелија је значајно мањи у групама мишева третираних витамином С. Процент NK и NKT ћелија је значајно већи у групама мишева који нису третираны витамином С, али је проценат ових ћелија који експримирају маркер цитотоксичности, перфорин, значајно већи у групама мишева третираных вита-

мином С. Процент CD11b+ ћелија је већи у групама мишева које нису примале витамин С и највећи проценат ових ћелија (више од 85%) експримира маркер алтернативне активације CD206, али је проценат класично активираних ћелија (CD86+) у оквиру CD11b+ популације значајно већи у групама мишева третираних витамином С. У језицима мишева третираних витамином С забележен је и значајно мањи проценат регулаторних Т лимфоцита.

Резултати ове студије указују да витамин С стимулацијом антитуморског имунског одговора утиче на смањење раста и прогресије ОСЦК.

Кључне речи: Витамин С, ОСЦК, језик, антитуморска имуност

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ОИ175069), билатералним пројектом са НР Кином (06/2018) и средствима Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (ЈР 18/19 и ЈР 19/19).

VITAMIN C APPLIED THERAPEUTICALLY REDUCES THE PROGRESSION OF ORAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA IN MICE

Nevena Lađevac¹, Dragana Arsenijević^{1,2}, Vladimir Marković¹, Bojana Simović Marković¹, Jelena Dimitrijević^{1,3}, Bojana Stojanović^{1,4}, Željko Todorović^{1,5}, Nebojša Arsenijević¹, Marija Milovanović¹, Aleksandar Arsenijević¹, Jelena Milovanović^{1,6}

¹Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

²Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

³Department of Medical Statistics and Informatics

⁴Department of Pathological Physiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁵Department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁶Department of Histology and Embryology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

ABSTRACT

Vitamin C reduces the growth of various tumors, *in vitro* and *in vivo*, and stimulates the antitumor immune response. Except the results of one *in vitro* study in human oral squamous cell carcinoma (OSCC), CAL-27, showing that vitamin C by inducing the formation of reactive oxygen species kills these cells and reduces the growth of CAL-27 xenografts in immunodeficient mice, there are no data on the possible antitumor activity of vitamin C in OSCC. The aim of this study was to investigate the potential therapeutic effect of vitamin C in an OSCC induced in BALB/c female mice by oral administration of 4-nitroquinoline-1-oxide for 20 weeks. The experimental groups received vitamin C intraperitoneally every day for four weeks from the 20th week of the experiment and other group in the same time received cisplatin three times per week. The obtained results indicate that vitamin C applied therapeutically significantly reduces the number of tumor lesions per tongue. Vitamin C, used in combination with cisplatin, also enhances the antitumor effect of cisplatin. There was no difference in the percentage of CD3+ lymphocytes in mononuclear cells isolated from the tongue and analyzed by flow cytometry, but in the groups of mice treated with vitamin C the percentage of CD3+ lymphocytes expressing CTLA-4 and PD1 inhibitory molecules was significantly higher compared to control and cisplatin groups. The percentage of CD45-PDL1+ cells was significantly lower in the groups of mice treated with vitamin C. The percentage of NK and NKT cells was significantly higher in control and cisplatin groups, but the percentage of these cells expressing the cytotoxicity marker, perforin, was significantly higher in the groups of mice treated with vitamin C. The percentage of CD11b+ cells is higher in groups of mice that did not receive vitamin C with the highest percentage of these cells (more than 85%) expressing the marker of alternative activation CD206,

but the percentage of classically activated cells (CD86+) within CD11b+ population is significantly higher in groups of mice treated with vitamin C. A significantly lower percentage of regulatory T lymphocytes were observed in the tongues of mice treated with vitamin C. The results of this study indicate that vitamin C stimulates the antitumor immune response and reduces the growth and progression of OSCC.

Key words: Vitamin C, OSCC, tongue, antitumor immunity

Funding: The research was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (OI175069) and bilateral project with the People's Republic of China (06/2018) and the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac (JP 18/19, JP 19/19, MP 01/19 and MP 2/19).

ПОВЕЗАНОСТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ЗА МАТРИКСНУ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗУ 9 СА МУЛТИПЛИМ РЕЦЕСИЈАМА ГИНГИВЕ

Неда Перуновић¹, Миа Ракић², Наташа Пејчић¹, Саша Чакић¹

¹Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

²ETEP, University Complutense of Madrid, Madrid, Spain

САЖЕТАК

Увод: Рецесије гингиве представљају најраспрострањенију и најкомплекснију мукогингивалну аномалију. Познавање фактора ризика који доприносе деструкцији меких пародонталних ткива је од изузетног значаја у терапији и прогнози ове аномалије. Међу гингивалним рецесијама специфичну форму и са терапијског аспекта прави изазов представљају мултипле рецесије гингиве (МРГ). Циљ: ове студије је био да се испита да ли постоји повезаност полиморфизма једног нуклеотида на позицији -1562 (C>T), у промоторском региону гена за матриксну металопротеиназу 9 (ММП9) са мултиплим рецесијама гингиве код млађих одраслих особа у популацији Републике Србије. Материјал и методе: У студију је било укључено 161 системских здравих испитаника: 60 пацијената са МРГ и 101 испитаник са здравим пародонталним ткивима. Генотипизација је извршена применом методе реакција ланчане полимеразе/рестрикциона анализа на геномској ДНК изолованој из бриса ђукалне слузокоже испитаника. Евалуација стања пародонталних ткива и нивоа оралне хигијене изведена је мерењем следећих клиничких параметара: вертикалне димензије рецесије (ВДР), ширине кератинизованог ткива (СКГ), дубине сондирања (ДС), нивоа припојног епитела (НПЕ) и плак индекса (ПИ). Резултати: Резултати су показали статистички значајну разлику у учесталости генотипова за -1562C/T полиморфизам у гену за ММП9 и алела код пацијента са МРГ и испитаника са здравим пародонталним ткивима. Учесталост генотипа СТ (хетерозигот за полиморфизам) је статистички значајно била већа код пацијената са МРГ у односу на контролну групу и носиоци Т алела су имали апроксимативно 3 пута већи ризик за настанак мултиплих рецесија гингиве. Код пацијената са СТ генотипом су статистички значајно веће биле вредности клиничких пародонталних параметара – ВДР и НПЕ (показатеља деструкције ткива) у односу на пацијенте са СС генотипом. Закључак: Добијени резултати упућују на закључак да се ММП9 -1562 C>T полиморфизам може представити као потенцијални фактор ризика и добар кандидат за предиктивни биомаркер у настанку мултиплих рецесија.

Кључне речи: мултипле рецесије, ММП9, полиморфизам

Рад је публикован: Neda Perunovic, Mia Rakic, Sasa Jankovic, Zoran Aleksic, Xavier Struillou, Sasa Cakic, Miljan Puletic, Vojislav Lekovic, Jelena Milasin. MMP-9 C-1562T (rs3918242) promoter polymorphism as a susceptibility factor for multiple gingival recessions (MGRs). International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry. (2015) Volume 35, Number 2, Pages: 263-269. DOI: 10.11607/prd.2087

Истраживање је финансирано средствима: Ова студија је подржана од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, Београд, Србија (референца пројекта 175075).

ASSOCIATION OF MATRIX METALLOPROTEINASE 9 POLYMORPHISM AND MULTIPLE GINGIVAL RECESSIONS

Neda Perunovic¹, Mia Rakic², Natasa Pejic¹, Sasa Cakic¹

¹School of Dental Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

²EETEP, University Complutense of Madrid, Madrid, Spain

ABSTRACT

Introduction: Gingival recession represent the most common and complex mucogingival anomaly. Knowledge of risk factors that contribute to the destruction of soft periodontal tissue is of great importance in the treatment and prognosis of this anomaly. Among gingival recessions, multiple gingival recessions (MRGs) represents specific form and a therapeutic challenge. **Objectives:** To investigate the potential association of the single nucleotide polymorphisms in the promoter region at the position-1562 of the gene coding matrix metalloproteinase- 9 (MMP-9) in young Serbian patients suffering multiple recessions. **Material and methods:** The study included 161 systemically healthy subjects fulfilling study requests, amongst them 60 with multiple gingival recession (MGR) and 101 with healthy periodontal tissues. The polymorphisms were investigated using polymerase chain reaction in the samples of buccal swabs. The clinical measurements were performed in all subjects including: vertical recession depth (VRD), width of the keratinized tissue (WKT), probing depth (PD) , clinical attachment level (CAL) and plaque accumulation index (PI). **Results:** The results showed a statistically significant difference in the frequency of genotypes for the -1562C/T polymorphism in the MMP9 gene and alleles in patients with MGR and subjects with healthy periodontal tissues. Heterozygotes (CT) were significantly more frequent in the MGRs group than in the control group and carriers of the T allele had an approximately threefold increase of MGRs risk. Patients with the CT genotype exhibited significantly higher values of clinical periodontal parameters VRD and CAL (indicators of tissue destruction) than patients with the CC genotype. **Conclusion:** The -1562 C>T SNP in the promoter region of MMP-9 appears to be a risk factor for MGR development and a potential predictor of more severe clinical phenotype.

Key words: multiple gingival recessions, MMP-9, polymorphisms

The paper is published: Neda Perunovic, Mia Rakic, Sasa Jankovic, Zoran Aleksic,

Xavier Struillou, Sasa Cakic, Miljan Puletic, Vojislav Lekovic, Jelena Milasin. MMP-9 C-1562T (rs3918242) promoter polymorphism as a susceptibility factor for multiple gingival recessions (MGRs). *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. (2015) Volume 35, Number 2, Pages: 263-269. DOI: 10.11607/prd.2087.

Funding: This study was supported by the Ministry of Education and Science, Republic of Serbia, Belgrade, Serbia (project references 175075).

ЕКСПРЕСИЈА IL-1 β У ТКИВУ ПОСТЕЉИЦЕ ДОБИЈЕНОМ ИЗ ТЕРМИНСКИХ И ПРЕТЕРМИНСКИХ ПОРОЂАЈА КОРЕЛИРА СА ЕКСПРЕСИЈОМ ГАЛЕКТИНА-3

Никола Јовић^{1,2}, Јелена Миловановић³, Александар Арсенијевић³, Бојана Стојановић³,
Мирјана Варјачић^{1,2}, Марија Бићанин Илић^{1,2}, Дејана Ракић^{1,2},
Јована Јоксимовић Јовић⁴ и Марија Миловановић³

¹ Клиника за гинекологију и акушерство,

Универзитетски клинички центар Крајевца, Крајевац, Србија

² Катедра за гинекологију и акушерство, Факултет медицинских наука,
Универзитет у Крајевцу, Крајевац, Србија

³ Центар за молекулску медицину и истраживање мајичних ћелија,
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу, Крајевац, Србија

⁴ Катедра за физиологију, Факултет медицинских наука,
Универзитет у Крајевцу, Крајевац, Србија

САЖЕТАК

Проинфламацијске улоге галектином-3 индуковане активације NLRP3 инфламозом и последичне продукције IL-1 β су описане у неколико акутних и хроничних инфламацијских обољења. Међутим, експресија галектина-3 и NLRP3 у ткиву постељице је испитивана у врло мало студија, са различитим у резултатима, док њихова интеракција у процесима претерминског (ПТП) и терминског порођаја (ТП), као и њихова корелација са IL-1 β , цитокином који има важну улогу током порођаја, још увек није испитивана. Циљ ове студије је био анализирати експресију протеина галектина-3, NLRP3 и IL-1 β у децидуи, чупицама и плодовим овојцима, као и њихову међусобну корелацију и корелацију са клиничким параметрима инфламације у ПТП и ТП. Студија је обухватила 43 жене са претерминским порођајем (гестацијска старост 25.0-36.6) и хистолошким хориоамнионитисом (ПТП) и контролну групу, 22 жене са терминским порођајем (гестацијска старост 37.0-41.6) без хистолошког хориоамнионитиса (ТП). Анализа ткивних пресека обојених анти- галектин-3, - NLRP3 и -IL-1 β антителима је вршена од стране три независна истраживача. Ниво експресије галектина-3 и IL-1 β је био значајно већи ($p < 0.001$) у децидуи, чупицама и плодовим овојцима у ПТП групи у поређењу са ТП групом, док није било разлике у експресији NLRP3. Даљом анализом утврђено је да не постоји корелација у експресији NLRP3 и галектина-3 и IL-1 β , али да постоји корелација између експресије галектина-3 и експресије IL-1 β у децидуи ($R=0,401$; $p=0,008$), чупицама ($R=0,301$; $p=0,042$), и плодовим овојцима ($R=0,428$; $p=0,002$), у обе групе, ПТП и ТП. Такође, експресија галектина-3 и IL-1 β у децидуи и плодовим овојцима је била у корелацији са параметрима инфламације из крви

мајке и феталне крви (С-реактивни протеин, број леукоцита и фибриноген). Јака корелација експресије галектина-3 и IL-1 β у ткиву постељице и феталним ткивима током порођаја указује да галектин-3 може учествовати у регулацији инфламацијских процеса у постељици, доводећи до стварања IL-1 β , цитокина који игра главну улогу у претерминском и терминском порођају.

Кључне речи: IL-1 β , галектин-3, корелација, порођај

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ON175069) и Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу (ЈП 04/21).

THE EXPRESSION OF IL-1B IN PLACENTAL TISSUE OBTAINED DURING TERM AND PRETERM BIRTH CORRELATES WITH THE PLACENTAL EXPRESSION OF GALECTIN-3

Nikola Jovic^{1,2}, Jelena Milovanovic³, Aleksandar Arsenijevic³, Bojana Stojanovic³, Mirjana Varjadic^{1,2}, Marija Bicanin Ilic^{1,2}, Dejana Rakic^{1,2}, Jovana Joksimovic Jovic⁴ and Marija Milovanovic³

¹*Clinic for Gynecology and Obstetrics, University Clinical Centre of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

²*Department of Gynecology and Obstetrics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

³*Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

⁴*Department of Physiology Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

ABSTRACT

Pro-inflammatory roles of Gal-3 induced activation of NLRP3 inflammasome and consecutive production of IL-1 β have been described in several acute and chronic inflammatory diseases. However, expression of Gal-3 and NLRP3 in placental tissue were studied in only few studies with varied results, but their interactions in processes of preterm birth (PTB) and term birth (TB) and their correlation with IL-1 β , cytokine that plays important roles during labor, were not explored. The aim of this study was to analyze protein expression of Gal-3, NLRP3, and IL-1 β in decidua, villi, and fetal membranes, and to analyze their mutual correlation and correlation with clinical parameters of inflammation in PTB and TB. The study included 43 women with preterm birth (gestational age of 25.0-36.6) and histological chorioamnionitis (PTB) and control subjects, 22 women with term birth (gestational age of 37.0-41.6) without histological chorioamnionitis (TB). Analysis of tissue sections stained with anti- Gal-3, -NLRP3, and -IL-1 β antibodies was assessed by three independent investigators. Expression level of Gal-3 and IL-1 β was significantly higher ($p < 0.001$) in decidua, villi and fetal membranes in PTB group compared to TB group, while there was no difference in the expression of NLRP3. Further analysis revealed no correlation between protein expression of NLRP3 and expression of Gal-3 and IL-1 β , but there was correlation between expression of Gal-3 and IL-1 β in decidua ($R = 0,401$; $p = 0,008$), villi ($R = 0,301$; $p = 0,042$), and fetal membranes ($R = 0,428$; $p = 0,002$) in both groups, PTB and TB. Also expression of Gal-3 and IL-1 β in decidua and fetal membranes was in correlation with parameters of inflammation in maternal and fetal blood (C-reactive protein, leukocyte number and fibrinogen). The strong correlation between expression of Gal-3 and IL-1 β in placental and fetal tissues during labor indicates that Gal-3 may participate in the regulation of the inflammatory processes

in placenta leading to production of IL-1 β , cytokine that plays the main role in both term and preterm birth.

Key words: IL-1 β , Galectin-3, correlation, labor

Funding: The research was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (ON175069) and the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac (JP 04/21).

ДНК ПРОФИЛИСАЊЕ У ИСТРЖИВАЊИМА РАКА – ДИЈАГНОСТИЧКИ И ПРОГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ

Никола Танић¹, Наста Танић²

¹Универзитет у Београду, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националне значаја за Републику Србију, Београд, Република Србија

²Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке „Винча“,

Институт од националне значаја за Републику Србију, Винча, Република Србија

САЖЕТАК

Канцерогенеза је вишестепени процес, последица акумулације мутација. Како је стопа спонтаних мутација у хуманим ћелијама знатно нижа од великог броја мутација уочених у ћелијама рака, логична је претпоставка да су туморске ћелије манифестација мутатор фенотипа. Мутатор фенотип, који је последица геномске нестабилности, означава повећану стопу мутације која се јавља у неопластичним ћелијама. Индукција мутатор фенотипа, геномске нестабилности, је кључни рани догађај у процесу карциногенезе који омогућава иницираној ћелији да еволуира у канцер ћелију постизањем већег пролиферативног капацитета и генетске пластичности, која може превазићи имунолошки одговор домаћина, локализована токсична окружења и субоптимално снабдевање микронутријентима. Идентификована су три различита облика геномске нестабилности, микросателитска нестабилност (МИН), хромозомска нестабилност (ЦИН) и нестабилност једног нуклеотида (СНИ). За одређивање терапијског протокола и исход болест од суштинског је значаја који облик нестабилности је присутан у неопластичним ћелијама. Да ли постоји начин да се, у једном кораку са релативно једноставном процедуром и по релативно ниској цени, утврди облик и измери степен геномске нестабилности?

Да, ланчана реакција полимеразе са арбитрарним прајмерима (АП-ПЦР) је метода ДНК фингерпринта (отиска прстију) заснована на модификованој варијанти ПЦРа која се изводи са произвољно изабраним амплимерима за ко-амплификацију вишеструких и независних ДНК секвенци под условима смањене специфичности хибридизације током првих циклуса. Крајњи резултат овако дизајниране реакције је генерисање специфичног ДНК профила. Непристрасна природа АП-ПЦР профилисања омогућава скрининг анонимних региона генома без икаквог претходног знања о његовој структури и пружа информације о две различите врсте промена на ДНК молекулу. Ове промене представљају акумулацију мутација у ДНК секвенцама (квалитативне промене – МИН фенотип) које се манифестују као промене покретљивости у обрасцу трака, док су амплификације или делеције

постојећег хромозомског материјала (квантитативне промене – ЦИН фенотип) видљиве као измењени интензитети трака у датом обрасцу. Ми смо применили АП-ПЦР профилисање за идентификовање и мерење степена геномске нестабилности у узорцима пацијената са неситноћелијским карциномом плућа, анапластичним астроцитомом, глиобластомом мултиформе, карциномом сквамозних ћелија главе и врата и њиховим премалигним лезијама леукоплакијама. На крају, идентификовали смо неке јединствене генетичке промене које никада раније нису биле повезане са овим типовима канцера.

Кључне речи: ДНК профилисање, геномска нестабилност, АП-ПЦР

Истраживање је финансирано средствима: Министарство просвете, науке и технолошког развоја, евиденциони број 451-03-68/2022-14/ 200007.

DNA PROFILING IN CANCER RESEARCH – DIAGNOSTIC AND PROGNOSTIC VALUE

Nikola Tanić¹, Nasta Tanić²

¹*Institute for Biological Research “Siniša Stanković”, National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Republic of Republic of Serbia*

²*Institute of Nuclear Sciences “Vinča”, National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Serbia*

ABSTRACT

Cancer development is a multistage process that results from an accumulation of mutations. Since spontaneous mutation rates in human cells are considerably lower than the large number of mutations observed in cancer cells, cancer cells must be a manifestation of mutator phenotype. The mutator phenotype, also referred to as genomic instability, designates the increased mutation rate that occurs in neoplastic cells. The induction of genomic instability phenotype is emerging to be a crucial early event in carcinogenesis that enables an initiated cell to evolve into a cancer cell by achieving a greater proliferative capacity and genetic plasticity, which can overcome host immunological resistance, localized toxic environments and a suboptimal supply of micronutrients. Three distinct forms of genomic instability have been identified, microsatellite instability (MIN), chromosomal instability (CIN) and single nucleotide instability (SNI). It is of great importance for the determination of therapy and for therapy outcome, which form of instability is present in cancer cells. Is there a way to determine the form of instability and measure it in relatively simple one step procedure and at low cost? Yes, AP-PCR is a PCR-based DNA fingerprinting method for DNA profiling that utilizes arbitrarily chosen primers to co-amplify multiple and independent sequences under low stringency conditions during the first cycles. The unbiased nature of AP-PCR profiling allows for the screening of anonymous regions of a genome without any prior knowledge of its structure and provides information about two distinct types of DNA alterations. These alterations represent accumulation of changes in DNA sequence (qualitative changes – MIN phenotype) that manifest as mobility shifts in the banding pattern while amplifications or deletions of existing chromosomal material (quantitative changes – CIN phenotype) are evident as altered band intensities in the banding pattern. We applied AP-PCR to measure genomic instability in samples of patients with Non-Small Cell Lung Cancer, Anaplastic Astrocytomas, Glioblastoma Multiforme, Head and Neck Squamous Cell Carcinomas and their premalignant lesions

leukoplakias. Moreover, we identified some unique genetic alterations that has never been associated with this types of cancer before.

Key words: DNA profiling, genomic instability, AP-PCR

Funding: Ministry of Education, Science and Technological Developmen of Republic of Serbiat, Contract No: 451-03-68/2022-14/ 200007

ХЕПАТИТИС С И ПАРАМЕТРИ ИНФЛАМАЦИЈСКОГ ОДГОВОРА КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ТЕРМИНАЛНОМ БУБРЕЖНОМ ИНСУФИЦИЈЕНЦИЈОМ

Ружица Лукић¹, Милена Јуришевић², Невена Гајовић³, Небојша Арсенијевић³, Вељко Марић⁴, Жељко Мијаиловић⁵, Слободан Јаковљевић⁶, Бојана Давидовић⁷, Бојан Кујунџић⁷, Бојан Јоксимовић⁸, Иван Јовановић³

¹Универзитет у Источно Сарајеву, БиХ, Медицински факултет, Катедра за микробиологију

²Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Клиничку фармацију

³Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Центар за Молекулску Медицину и Истраживање Мајичних Ћелија

⁴Универзитет у Источно Сарајеву, БиХ, Медицински факултет, Катедра за хирургију

⁵Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Инфективне болести

⁶Универзитетски клинички центар Крајевац, Србија, Хируршка клиника

⁷Универзитет у Источно Сарајеву, БиХ, Медицински факултет, Катедра за ситологију

⁸Универзитет у Источно Сарајеву, БиХ, Медицински факултет, Катедра за педијатрију

САЖЕТАК

Хепатитис С вирусна инфекција (HCV), један од најчешћих узрока болести јетре, честа је компликација код пацијената са терминалном бубрежном инсуфицијенцијом (енг. end-stage renal disease, ESRD). ESRD се дефинише као смањена гломеруларна филтрација, а такође је праћена и поремећеном функцијом имунског система. Галектин-3 је лектин који повезује β -галактозиде, укључен у различите биолошке процесе, укључујући патогенезу хроничне бубрежне болести. Циљ наше студије је био да се испита тежина болести код ESRD⁺ HCV⁺ пацијената и анализирају серумске концентрације цитокина; Анти- HCV антитела; и галектина-3. Такође, покушали смо да одредимо потенцијалну корелацију између нивоа галектина-3 и параметара тежине болести ALT и AST. Наши резултати показују смањене нивое ALT и AST ($p = 0.00$), што указује на мање оштећење јетре код ESRD⁺ HCV⁺ пацијената у односу на HCV⁺ пацијенате. Повећана концентрација IL-6 ($p = 0.03$) имплицира хепатопротективну улогу IL -6 код ових пацијената. Такође, ниво галектина-3 ($p = 0.00$) у серуму ESRD⁺ HCV⁺ пацијената већи је него код HCV⁺ пацијената. Ову промену „прати“ негативна корелација између галектина-3 и AST-а и ALT-а ($p = 0.029$; $p = 0.033$). Присуство повећаних системских вредности IL-6 и Gal-3 код ESRD⁺ HCV⁺ пацијената може бити компензаторни механизам да се избегну или ограниче текући проинфламацијски процеси и да се супримира хронична инфламација, што указује на нове аспекте HCV инфекције код пацијената са ESRD.

Кључне речи: хепатитис С вирусна инфекција, терминална бубрежна инсуфицијенција, анти-вирусни имунски одговор, цитокини, галектин-3, sST2

Рад је публикован: Lukic R, Gajovic N, Jovanovic I, Jurisevic M, Mijailovic Z, Maric V, Popovska Jovicic B, Arsenijevic N. Potential Hepatoprotective Role of Galectin-3 during HCV Infection in End-Stage Renal Disease Patients. *Dis Markers*. 2017; 2017: 6275987.

Lukic R, Cupic M, Gajovic N, Jurisevic M, Mijailovic Z, Davidovic B, Kujundzic B, Joksimovic B, Arsenijevic N, Jovanovic I. Increased systemic sST2 in patients with end stage renal disease contributes to milder liver damage during HCV infection. *J Infect Dev Countr* 2020; 14(5):519-526. doi:10.3855/jidc.11741

Истраживање је финансирано средствима: пројекта Фонда за науку Републике Србије (СИБИРДС), пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја (175069) и интерног пројекта Факултета медицинских наука у Крагујевцу (06/15).

HEPATITIS C AND PARAMETERS OF INFLAMMATORY RESPONSE IN PATIENTS WITH END STAGE RENAL DISEASE

Ruzica Lukic¹, Milena Jurisevic², Nevena Gajovic³, Nebojsa Arsenijevic³, Veljko Maric⁴, Zeljko Mijailovic⁵, Slobodan Jakovljevic⁶, Bojana Davidovic⁷, Bojan Kujundžić⁷, Bojan Joksimovic⁸, Ivan Jovanovic³

¹University of East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Faculty of Medicine, Department of Microbiology

²University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Clinical pharmacy

³ University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research

⁴University of East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Faculty of Medicine, Department of Surgery

⁵University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Infectious diseases

⁶University Clinical Center Kragujevac, Serbia, Department of Surgery

⁷University of East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Faculty of Medicine, Department of Dentistry

⁸University of East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina, Faculty of Medicine, Pediatric department

ABSTRACT

Hepatitis C virus infection (HCV), one of the greatest causes of liver disease, is a frequent complication in patients with end-stage renal disease (ESRD) on dialysis. ESRD is defined as decreased glomerular filtration and also accompanied by impaired function of the immune system. Galectin-3 is a β -galactoside-binding lectin, involved in various biological processes including pathogenesis of chronic renal disease. The aim of our study was to estimate disease severity in ESRD HCV+ patients and analyze the serum concentrations of cytokines; anti-HCV antibodies; and galectin-3. Also, we attempted to determine potential correlation between galectin-3 level and parameters of disease severity ALT and AST. Our results showed decreased levels of ALT and AST ($p = 0.00$), demonstrating less liver destruction in ESRD HCV+ patients in comparison to HCV+ patients. Increased levels of IL-6 ($p = 0.03$) implicate a hepatoprotective role of IL-6 in these patients. Also, level of galectin-3 ($p = 0.00$)

in the serum of ESRD HCV+ patients was higher than that of HCV+ patients. This alteration was accompanied with negative correlation between galectin-3 and AST and ALT, respectively ($p = 0.029$; $p = 0.033$). The presence of increased systemic levels of IL-6 and Gal-3 in ESRD HCV+ patients may be an attempt to counteract or limit ongoing proinflammatory processes and to downregulate chronic inflammation, suggesting the new aspects of HCV infection in ESRD patients.

Key words: HCV infection, end stage renal disease, antiviral immune response, cytokines, galectin-3, sST2

The paper is published: Lukic R, Gajovic N, Jovanovic I, Jurisevic M, Mijailovic Z, Maric V, Popovska Jovicic B, Arsenijevic N. Potential Hepatoprotective Role of Galectin-3 during HCV Infection in End-Stage Renal Disease Patients. *Dis Markers*. 2017; 2017: 6275987.

Lukic R, Cupic M, Gajovic N, Jurisevic M, Mijailovic Z, Davidovic B, Kujundzic B, Joksimovic B, Arsenijevic N, Jovanovic I. Increased systemic sST2 in patients with end stage renal disease contributes to milder liver damage during HCV infection. *J Infect Dev Countr* 2020; 14(5):519-526. doi:10.3855/jidc.11741

Funding: This work was supported by grants from the Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (175069), Serbia, and from the Faculty of Medical Sciences Kragujevac (project JP 06/15), Serbia.

АНТИТУМОРСКА СВОЈСТВА ЕКСТРАКТА *ALCHEMILLA VULGARIS* AGG.

Сања Јелача¹, Дијана Драча¹, Зора Дајић-Стевановић², Иван Јовановић³, Никола Танић¹
Сања Мијатовић¹, Небојша Арсенијевић³, Данијела Максимовић-Иванић¹

¹Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ –
Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија
²Пољопривредни факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија
³Центар за истраживања матичних ћелија, Факултет медицинских наука,
Универзитет у Крајеву, Крајеву, Србија

САЖЕТАК

Alchemilla vulgaris је добро позната у традиционалној медицини, посебно за лечење гинеколошких тегоба код жена. Неколико етномедицинских студија за територију Балкана описује благотворна дејства ове биљке против различитих патолошких стања попут неплодности, дисменореје, циста, тегоба у менопаузи и ендометриозе. Циљ нашег истраживања био је да се утврде анти туморска својства етанолног екстракта *Alchemilla vulgaris* agg. на ћелијској линији тумора дојке 4T1 *in vitro*. Третман екстрактом *Alchemilla vulgaris* agg. у трајању од 72 сата је смањив вијабилитет 4T1 ћелија на дозно-зависан начин. Смањење вијабилности праћено је губитком пролиферативног потенцијала ћелија. Поред тога, одређени проценат 4T1 ћелија подлегао је програмираној ћелијској смрти познатој као апоптоза. Детектована апоптоза је праћена активацијом каспаза и додатно потврђена типичном морфологијом нуклеуса коришћењем флуоресцентне микроскопије. Свеукупној анти туморској активности екстракта *Alchemilla vulgaris* agg. доприноси и ћелијска смрт аутофагијом. Паралелно, метастатски потенцијал ових ћелија је смањен, што је потврђено смањењем адхезијом, инвазијом, миграцијом и потенцијалом ћелија да формирају колоније. Сви поменути ефекти могу бити у корелацији са повећаном продукцијом реактивних кисеоничних и азотних врста детектованом након третмана. У целини, добијени резултати о деловању *Alchemilla vulgaris* agg. на ћелије рака дојке чине ову биљку вредном пажње за даљу евалуацију у области експерименталне онкологије.

Кључне речи: *Alchemilla vulgaris* agg., тумор дојке, метастазе

Истраживање је финансирано средствима: Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије бр. 451-03-9/2021-14/200007 и заједничко финансирање развојних и истраживачких пројеката Републике Србије и Народне Републике Кине.

ANTITUMOR PROPERTIES OF *ALCHEMILLA VULGARIS* AGG.

Sanja Jelača¹, Dijana Drača¹, Zora Dajić-Stevanović², Ivan Jovanović³, Nikola Tanić¹, Sanja Mijatović¹,
Nebojša Arsenijević³, Danijela Maksimović-Ivanić¹

¹Institute for Biological Research “Siniša Stanković” – National Institute of Republic of Serbia,
University of Belgrade, Belgrade, Serbia

²Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

³Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of
Kragujevac, Kragujevac, Serbia

ABSTRACT

Alchemilla vulgaris is well known in traditional medicine especially for the treatment of gynecological problems in women. Several ethnomedicinal studies for the territory of Balkan reports its well known biological properties against many conditions such as infertility, dysmenorrhea, cysts, menopausal complaints and endometriosis. Considering ethnomedicinal data on female illnesses, the aim of our study was to determine whether ethanol extract of *Alchemilla vulgaris* agg. exert antitumor effect against mouse breast cancer cells *in vitro*. Treatment with *Alchemilla vulgaris* agg. extract decreased viability of mouse breast cancer cells (4T1) in dose-dependent manner after 72 h. The viability decrease was followed by loss of dividing potential after the treatment. In parallel with this, certain percentage of 4T1 cells was subjected to programmed cell death—apoptosis. Detected apoptosis was followed with caspase activation while typical apoptotic morphology of treated cells was observed by fluorescent microscopy. Apart from inhibited cell division and induced apoptosis, decreased cell viability was due to triggered autophagy cell death. In parallel, diminished metastatic potential of these cells was confirmed by abrogated adhesion, invasion, migration and decreased colony forming potential after the treatment. All mentioned effects can be connected with enhanced production of ROS and intracellular NO after the treatment with *Alchemilla vulgaris* agg. Taken together, the effect of *Alchemilla vulgaris* agg. against breast cancer cells makes this plant worthwhile for further evaluation in the field of oncology.

Key words: *Alchemilla vulgaris* agg., breast cancer, metastasis

Funding: Grant: Ministry of Education, Science and Technological development of the Republic of Serbia No. 451-03-9/2021-14/200007 and joint funding of Development and research projects of the Republic of Serbia and the People’s Republic of China.

АЛТРУИЗАМ НА ЂЕЛИЈСКОМ НИВОУ- СЕМЕ ПРОГРЕСИЈЕ ТУМОРА И ПЛАТФОРМА ЗА ИЗЛЕЧЕЊЕ

Сања Мијатовић, Данијела Максимовић-Иванић

Одељење за имунологију, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић” - Институт од националне значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду

САЖЕТАК

Снажан утицај технологије обележје је нове ере у медицини, али, наизглед парадоксално, није резултирао суштинским искорак у разумевању и лечењу низа болести дегенеративног или пролиферативног карактера. Изграђена на оваквој платформи, високоспецифична онкотерапија усмерена на малигни фенотип или конституенте туморског микроокружења од стромалних до ендотелних и имуно-инфилтрирајућих ћелија, требало је да донесе револуционарни заокрет у лечењу. Уместо тога, неадекватна достигнућа и нејасна корелација између индивидуалног одговора на примењени третман и експресије релевантних молекула у туморском ткиву подсећају нас да је, и поред свих биотехнолошких искорака, разумевање патологије болести и даље веома ограничено, док је рашчлањивање биолошких система на молекуларне димензије замаглоило сагледавање смисла и функционалности целине. Ово се пре свега односи на туморе високог градуса које карактерише фракција нискодиферентованих ћелија, значајна хетерогеност ћелијских фенотипова, агресивне карактеристике туморског микроокружења и висок метастатски потенцијал. Како ни критеријум ниске опште токсичности који је суштински представљао и најважнију предност молекуларних терапија и главни мотив у њиховом креирању није задовољен, лечење се, не ретко, завршава избором неселективне хемо- или радио- терапије. Ограничени успех агресивних видова лечења код узнатредовалих малигнитета уско је повезан са репопулацијом тумора у одговору на овакве третмане. Поменути ефекат је извукао на површину софистицирану комуникациону мрежу унутар ткива тумора, откривајући интензивне контакте између виталних и умирућих ћелија, који се профилишу као најнажнији стимулус у одржавању континуитета живота туморске масе. О могућностима изласка из ове петље и напуштања зачараног круга смрти и деобе у тумору, као и потенцијалу биљака да подстакну процес успостављања нове биолошке равнотеже и унапреде ефекте актуелне терапије, биће дискутовано у овој студији.

Кључне речи: канцер, терапија, ћелијска смрт, диференцијација, компоненте природног порекла

Рад је публикован: Mijatović S, Bramanti A, Nicoletti F, Fagone P, Kaluđerović GN, Maksimović-Ivanić D. Naturally occurring compounds in differentiation based therapy of cancer. *Biotechnol Adv.* 2018 pii: S0734-9750(18)30073-9. doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.04.001.

Krajnović T, Drača D, Kaluđerović GN, Dunderović D, Mirkov I, Wessjohann LA, Maksimović-Ivanić D, Mijatović S. The hop-derived prenylflavonoid isoxanthohumol inhibits the formation of lung metastasis in B16-F10 murine melanoma model. *Food Chem Toxicol.* 2019 Jul;129:257-268.

Krajnović T, Kaluđerović GN, Wessjohann LA, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D. Versatile antitumor potential of isoxanthohumol: Enhancement of paclitaxel activity *in vivo*. *Pharmacol Res.* 2016 Mar;105:62-73. doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.011.

Истраживање је финансирано средствима: Програм рада ИБИСС УБ за 2020-2022. годину, Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (451-03-68/2020-14/20007; 451-03-9/2021-14/20007; 451-03-68/2022-14/200007) и „Молекуларни механизми физиолошке и фармаколошке контроле инфламације и канцера” (#173013) финансираном од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за период 2011–2019. године.

ALTRUISTIC BEHAVIOR OF THE CELLS – THE SEED OF TUMOR PROGRESSION AND NEW TERAPEUTIC PLATFORM

Sanja Mijatović, Danijela Maksimović-Ivanić

Department of immunology, Institute for Biological Research “Siniša Stanković”, National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade

ABSTRACT

The impact of the technology is a hallmark of a new era in molecular medicine, but, paradoxically, it has not resulted in improved understanding of numerous degenerative/proliferative diseases. Built on such a platform, highly specific oncotherapy aimed at the malignant phenotype, or constituents of the tumor microenvironment from stromal to endothelial and immune-infiltrating cells, was supposed to bring a revolutionary turn in treatment. Instead, inadequate achievements and unclear correlations between individual response to treatment and expression of relevant molecules in tumor tissue remind us that, despite all biotechnological advances, understanding of disease pathology is still very limited, while breaking down biological systems into molecular dimensions has obscured meaning and functionality of the whole. This primarily refers to high-grade tumors characterized by a fraction of low-differentiated cells, significant heterogeneity of cell phenotypes and aggressive characteristics of the tumor microenvironment. As the criterion of low general toxicity, which essentially represented the most important advantage of molecular therapies and the main motive in their creation, is not satisfied, the treatment often ends with the choice of non-selective chemotherapy or radiotherapy. The limited success of aggressive treatments in advanced malignancies is closely related to tumor repopulation in response to such treatments. This effect brought to the surface a sophisticated communication network within the tumor tissue, revealing intense contacts between vital and dying cells, which are profiled as the most important stimulus in maintaining the continuity of life of the tumor mass. The possibilities of getting out of this loop and leaving the vicious circle of death and division in the tumor, as well as the potential of plants to stimulate the process of establishing new biological balance and improve the effects of current therapy, will be discussed in this study.

Key words: cancer, therapy, cell death, differentiation, naturally occurring compounds

The paper is published: Mijatović S, Bramanti A, Nicoletti F, Fagone P, Kaluđerović GN, Maksimović-Ivanić D. Naturally occurring compounds in differentiation based therapy of cancer. *Biotechnol Adv.* 2018 pii: S0734-9750(18)30073-9.doi: 10.1016/j.biotechadv.2018.04.001.

Krajnović T, Drača D, Kaluđerović GN, Dunderović D, Mirkov I, Wessjohann LA, Maksimović-Ivanić D, Mijatović S. The hop-derived prenylflavonoid isoxanthohumol inhibits the formation of lung metastasis in B16-F10 murine melanoma model. *Food Chem Toxicol.* 2019 Jul;129:257-268.

Krajnović T, Kaluđerović GN, Wessjohann LA, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D. Versatile antitumor potential of isoxanthohumol: Enhancement of paclitaxel activity in vivo. *Pharmacol Res.* 2016 Mar;105:62-73. doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.011.

Funding: IBISS UB work program for 2020-2022., the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (451-03-68/2020-14/20007; 451-03-9 /2021-14/20007; 451-03-68/2022-14/200007), and “ Molecular mechanisms of physiological and pharmacological control of inflammation and cancer ”(# 173013) funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia for the period 2011–2019.

ЦИТОТОКСИЧНОСТ КОМПЛЕКСА ПЛАТИНЕ(II) НА ЋЕЛИЈАМА КАРЦИНОМА ДОЈКЕ

Сања Зорнић¹, Бојана Симовић Марковић², Марија Д. Живковић³, Anđela A. Franich⁴,
Снежана Рајковић⁴, Небојша Арсенијевић², Јелена Пантић², Гордана Д. Радосављевић²

¹Одсек за микробиологију, Универзитетски клинички центар Крајевца

²Центар за молекулску медицину и истраживање мајичних ћелија,

Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

³Катедра за фармацију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајевцу

⁴Катедра за хемију, Природно-математички факултет, Универзитет у Крајевцу

САЖЕТАК

Карцином дојке је најчешће дијагностикован карцином код жена. На основу података последњих деценија, још увек не постоји ефикасна онкотерапија која може потпуно да заустави раст и елиминише туморске ћелије. С обзиром на то, неопходна су истраживања у циљу откривања нових терапеутика. У овој студији испитивана је антиканцерска активност новосинтетисаних комплекса платине(II) на ћелијским линијама карцинома дојке.

МТТ тестом је анализирана цитотоксичка активност тестираних комплекса на линијама ћелија карцинома дојке хуманог (MDA-MB 468) и мишјег (4Т1) порекла. Са циљем да се расветли механизам антитуморске активности комплекса платине(II) након 24-часовног третмана ћелија, проточном цитометријом је анализирана смрт канцерских ћелија дојењем уз помоћ Annexin-a V и пропиридијум јодида.

Међу свим испитиваним комплексима, комплекс Pt2, {[Pt(L2)Cl]2-μ pydz}Cl2, (где L2 представља ibn (L2= ibn), (isobutylenediamine)), је показао снажну цитотоксичку активност против канцерских ћелија in vitro. Овај цитотоксички ефекат комплекса Pt2 на ћелијама карцинома дојке хуманог и мишјег порекла је био дозно- и временски- зависан. Интересантно, уочено је да су MDA-MB 468 ћелије биле осетљивије на комплекс Pt2, у поређењу са 4Т1 ћелијама након 72h. Додатно, добијени подаци указују да тестирани комплекс Pt2 показује слабу цитотоксичку селективност према ћелијама карцинома дојке и нетуморским ћелијама MRC-5, али и слабију токсичност на нетуморским ћелијама у поређењу са цисплатином, као конвенционалним хемиотерапеутиком. Такође, комплекс Pt2 је у концентрацији 10μM и 30μM дозно-зависно индуковао апоптозу MDA-MB 468 и 4Т1 ћелија. Овај проапоптотски ефекат комплекса Pt2 је био сличан ефекту цисплатине.

Добијени налаз указује да комплекс Pt2 индукује апоптозу ћелија карцинома дојке што сугерише на то да комплекс Pt2 може бити обећавајући кандидат за будућа испитивања у области лечења карцинома дојке.

Кључне речи: комплекси Pt(II), {[Pt(L2)Cl]2-μ pydz}Cl2, цитотоксичка активност, карцином дојке

CYTOTOXICITY OF PLATINUM(II) COMPLEX ON BREAST CANCER CELLS

Sanja Zornic¹, Bojana Simovic Markovic², Marija D Zivkovic³, Anđela A Franich⁴, Snezana Rajkovic⁴, Nebojsa Arsenijevic², Jelena Pantic², Gordana D Radosavljevic²

¹Department of Microbiology, University Clinical Center, Kragujevac

²Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research,
Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

³Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

⁴Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac

ABSTRACT

Breast cancer is the most frequently diagnosed cancer in women. Observing the reports in the last decades there is no current oncotherapy which is able to completely stop the growth and cure cancer. Taking this into consideration there is an urgent need for the discovery of novel therapeutics. Here, we have investigated the anticancer activity of novel platinum(II) complexes against breast cancer cell lines.

The cytotoxicity of these novel complexes has been evaluated against human breast cancer cell line (MDA-MB 468) and murine breast cancer cells (4T1) using MTT assay. To elucidate the mechanism by which platinum(II) complexes cause tumor cell death, we performed flow cytometric analysis of Annexin V and propidium iodide staining in cells after 24h treatment.

Among all tested platinum(II) complexes, complex Pt₂{[Pt(L₂)Cl]₂-μ pydz}Cl₂ (where L₂ represents L₂=ibn (isobutylenediamine)) exhibits potent cytotoxic activity against cancer cells in vitro. The cytotoxic effect of Pt₂ on human and murine breast cancer cell viability was dose- and time- dependent. Interestingly, the human breast cell line MDA-MB 468 was more sensitive to complex Pt₂ after 72h compared to murine breast cancer cells 4T1. In addition, obtained data has indicated that the tested complex Pt₂ exhibits weak cytotoxic selectivity toward breast cancer cells and MCR-5 normal cells, but less toxicity against normal cells compared to cisplatin as a conventional chemotherapeutic agent. Furthermore, both in MDA-MB-468 and 4T1 cells, complex Pt₂ at 10μM and 30μM concentrations triggered apoptosis in a dose-dependent manner. This apoptotic effect of Pt₂ complex was similar to cisplatin.

Overall, these results indicate that Pt₂ induces death of breast cancer cells through apoptosis. Therefore, our results suggest that Pt₂ is a promising candidate for future investigation in the field of breast cancer research.

Key words: Pt(II) complexes, {[Pt(L₂)Cl]₂-μ pydz}Cl₂, cytotoxic activity, breast cancer

ВАЛПРОАТ ИСПОЉАВА ИМУНОСУПРЕСИВНО ДЕЈСТВО ПРЕКО АКТИВАЦИЈЕ PPAR-Г У КУЛТУРИ ХУМАНИХ МОНОНУКЛЕАРНИХ ЋЕЛИЈА

Сара Ракочевић¹, Горан Поповић¹, Милош Васиљевић¹, Љиљана Козић¹, Марија Дракул¹,
Дејан Бокоњић¹, Душан Михајловић¹, Миодраг Чолић^{1,2}

¹Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву, Босна и Херцеговина
²Одељење за имунологију и имунопаразитологију, Институт за примену нуклеарне енергије,
Универзитет у Београду, Србија

САЖЕТАК

Епилепсија је хронично неуролошко обољење са сложенем етиопатогенезом која укључује различите факторе средине и генетске факторе. Већина студија указује на тесну повезаност епилептичног пражњења и запаљења. Најчешће коришћени антиепилептици су валпроат (ВА), карбамазепин (КБЗ) и ламотригин (ЛТГ). Више публикација истиче њихов имуномодулаторни ефекат, *in vitro*. Циљ ове студије је да се испита утицај валпроата, карбамазепина и ламотригина на вијабилност, секрецију проинфламаторних цитокина и Т ћелијски одговор хуманих мононуклеарних ћелија периферне крви стимулираних са фитохемаглутинином (РНА), *in vitro*. Ниједан од три примењена антиепилептика није утицао на вијабилност ћелија после 24 или 72 часа инкубације. Валпроат и карбамазепин су смањили нивое IL-1 β и TNF- α у супернатантима култура, док је IL-6 био смањен само у присуству две највеће концентрације валпроата и карбамазепина након 72 часа инкубације. Такође, валпроат и карбамазепин су инхибирали Th1 и Treg одговоре, при чему је валпроат показао већи имуномодулаторни потенцијал. Ни валпроат ни карбамазепин нису мењали Th2 одговор. Нађено је да валпроат испољава значајан имуносупресивни ефекат директном активацијом једарног рецептора PPAR- γ , док је механизам деловања карбамазепина остао непознат. Ламотригин није испољио имуномодулаторни потенцијал у овом моделу. У закључку, наши резултати указују на значајан имуномодулаторни потенцијал валпроата и карбамазепина, са посебним акцентом на механизам деловања валпроата.

Кључне речи: валпроат, карбамазепин, проинфламацијски цитокини, Th одговор, PPAR- γ

VALPROATE EXERTS IMMUNOSUPPRESSIVE PROPERTIES VIA PPAR- γ ACTIVATION IN A MODEL OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELL CULTURE

Sara Rakočević¹, Goran Popović¹, Miloš Vasiljević¹, Ljiljana Kozić¹, Marija Drakul¹, Dejan Bokonjić¹, Dušan Mihajlović¹, Miodrag Čolić^{1,2}

¹Medical Faculty Foča, University of East Sarajevo, Bosnia and Herzegovina

²Department for Immunology and Immunoparasitology,
Institute for the Application of Nuclear Energy, University of Belgrade, Serbia

ABSTRACT

Epilepsy is a chronic neurological disorder with complex etiopathogenesis, involving various environmental and genetic factors. Many studies indicate that epileptic seizures and inflammation are tightly intertwined. The most frequently used antiepileptic agents are valproate (VA), carbamazepine (CBZ) and lamotrigine (LTG). Several reports highlighted their array of immunomodulatory effects, *in vitro*. This study aimed to analyze the effects of valproate, carbamazepine, and lamotrigine on viability, secretion of proinflammatory cytokines, and Th response by phytohaemagglutinin (PHA)-activated human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), *in vitro*. None of the three applied antiepileptic agents affected cell viability after 24h or 72h incubation. Valproate and carbamazepine reduced IL-1 β and TNF- α levels in culture supernatants, while IL-6 was reduced only by the two highest valproate and all carbamazepine doses after 72h incubation. Also, valproate and carbamazepine impaired Th1 and Treg responses, with valproate showing greater potential. Neither valproate nor carbamazepine modulated Th2 response. We unveiled that valproate displayed a significant immunosuppressive effect by directly activating nuclear receptor PPAR- γ , while carbamazepine's mode of action remained unknown. Lamotrigine did not show immunomodulatory properties in this cell culture model. In conclusion, our results showed significant immunomodulatory potency of valproate and carbamazepine, with a special emphasis on valproate mode of action.

Keywords: valproate, carbamazepine, PBMCs, proinflammatory cytokines, Th response, PPAR- γ

АНАЛИЗА АНТИТУМОРСКЕ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСА $Zn(S\text{-}PR\text{-}THIOSAL)_2$ У МИШЈЕМ КАРЦИНОМУ ДОЈКЕ

Saša Benazić¹, Žana Besser Silconi², Милена Јуришевић³, Јелена Миловановић⁴,
Марина Мијајловић³, Милош Николић³, Ivan Potočňák⁵, Erika Samořová⁵, Зоран Ратковић⁶,
Гордана Радић³, Бојана Симовић Марковић⁴, Јелена Пантић⁴, Марија Миловановић⁴,
Небојша Арсенијевић⁴, Гордана Д Радосављевић⁴

¹Одјел за тiрансфузију, Оишiiа болница Пула, Р Хрваииска

²Одјел за циiолоиiју, Оишiiа болница Пула, Р Хрваииска

³Катедра за фармацију, Факултети медицинских наука Универзитетa у Краiујевцу, Р Србија

⁴Центар за молекулску медицину и истраживање маиичних ћелија

Факултетa медицинских наука Универзитетa у Краiујевцу, Р Србија

⁵Institute of Chemistry, Faculty of Science, P.J. Šafárik University in Košice, Slovak Republic, Slovakia

⁶Институт за хемију, Природно-математички факултет Универзитетa у Краiујевцу, Р Србија

САЖЕТАК

Комплекс цинка(II) са S-пропил дериватом тиосалицилне киселине ($Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$) поседује значајну цитотоксичку активност на неколико линија туморских ћелија, укључујући 4T1 ћелије мишјег карцинома дојке и индукује апоптозу *in vitro*. Стога, антитуморска активност комплекса $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ је испитана *in vivo* користећи 4T1 ортотопски имплантиран модел карцинома дојке. Седмог дана након ортотопске трансплантације туморских ћелија, мишеви су третирани са комплексом $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ у дози 8mg/kg телесне тежине, са цисплатином, референтним цитостатиком (4mg/kg), или са 0.9% NaCl као плацебо. Све наведене групе мишева су третиране 3 пута недељно. Детектовано је да комплекс $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ значајно ремети раст карцинома дојке, узимајући у обзир пречник, волумен и тежину тумора. Међутим, налаз повећане концентрације ALT, али не и креатинина у серуму након примене $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ указује на потенцијалну хепатотоксичност испитиваног комплекса. Способност $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ да индукује апоптотску смрт ћелија карцинома дојке додатно је потврђена TUNEL тестом у трансплантираном туморском ткиву, као и повећаном експресијом каспазе-3 у 4T1 ћелијама третираним $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ *in vitro*. Даља анализа туморцидне активности $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ је показала да тестирани комплекс зауставља 4T1 ћелије у G1/S фази ћелијског циклуса и на њима повећава експресију негативних регулатора прогресије ћелијског циклуса, p16, p21 и p27. Уз то, комплекс $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ је редуковао експресију STAT3, важног регулатора прогресије ћелијског циклуса и апоптозе, и истовремено смањио генску експресију његових циљних мета нисходно у сигналној каскади, c-Myc и cyclin D3. На основу добијених података може се закључити да комплекс $Zn(S\text{-}pr\text{-}thiosal)_2$ има значајну антитуморску

активност у карциному дојке, што указује на његову могућу примену у експерименталној терапији тумора.

Кључне речи: Zn(S-pr-thiosal)₂, карцином дојке, апоптоза, ћелијски циклус

Рад је публикован: Benazic S, Besser Silconi Z, Jevtovic A, Jurisevic M, Milovanovic J, Мијајловић М, Николвић М, Канјевац Т, Иван Потоћнак, Самоћовић Е, Ратковић ЗР, Радич Г, Миловановић М, Панчић Ј, Арсенијевић Н, Радосављевић ГД. The Zn(S-pr-thiosal)₂ complex attenuates murine breast cancer growth by inducing apoptosis and G1/S cell cycle arrest. Future Med Chem 2020; 12(10): 897–914

Истраживање је финансирано средствима: Министарства просвете, науке и технолошког развоја Р Србије (НО175069, ОН172016 и ОН172011) и Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (МП01/14 и МП02/14).

THE ANALYSIS OF ANTI-BREAST CANCER ACTIVITY OF ZN(S-PR-THIOSAL)₂ COMPLEX IN MICE

Saša Benazić¹, Žana Besser Silconi², Milena Jurisevic³, Jelena Milovanovic⁴, Marina Mijajlovic³, Milos Nikolic³, Ivan Potočňák⁵, Erika Samořová⁵, Zoran Ratkovic⁶, Gordana Radic³, Bojana Simovic Markovic⁴, Jelena Pantic⁴, Marija Milovanovic⁴, Nebojsa Arsenijevic⁴, Gordana D. Radosavljevic⁴

¹Department of Transfusiology, Pula General Hospital, Pula, Croatia

²Department of Cytology, Pula General Hospital, Pula, Croatia

³Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

⁴Center for Molecular Medicine & Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

⁵Institute of Chemistry, Faculty of Science, P.J. Šafárik University in Košice, Košice, Slovakia

⁶Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

ABSTRACT

Zinc(II) complex of S-propyl thiosalicylic acid, named Zn(S-pr-thiosal)₂, exhibits cytotoxic activity against several tumor cell lines including 4T1 murine breast cancer cells, and induces tumor cell apoptosis. Anti-tumor activity of Zn(S-pr-thiosal)₂ complex *in vivo* has been tested using 4T1 orthotopic breast cancer model. Seven days after 4T1 cells application, the mice were treated with Zn(S-pr-thiosal)₂ (8 mg/kg), cisplatin (4 mg/kg) as a referent cytostatic, or vehicle (0.9% NaCl), three-times per week. Zn(S-pr-thiosal)₂ complex markedly impaired breast cancer growth as evaluated by lower tumor diameter, volume and weight. However, Zn(S-pr-thiosal)₂ complex increased ALT, but not serum creatinine levels, indicating its possible hepatotoxicity. The effects of Zn(S-pr-thiosal)₂ complex on apoptotic breast cancer cell death was further demonstrated in transplanted tumor tissues using TUNEL assay, but also by the higher expression of active caspase-3 in 4T1 cells treated with Zn(S-pr-thiosal)₂ complex *in vitro*. Further analyses of Zn(S-pr-thiosal)₂ complex tumoricidal activity have indicated that it affects G1/S cell cycle arrest and increases the expression of negative regulators of cell cycle progression p16, p21 and p27 in treated 4T1 cells. In this context, Zn(S-pr-thiosal)₂ complex downregulated STAT3, as an important regulator of cell cycle progression and apoptosis, and decreased gene expression of its downstream targets c-Myc and cyclin D3. Taken together, Zn(S-pr-thiosal)₂ complex has significant anti-breast cancer activity thus indicating its potential for the development of novel anti-tumor agents.

Key words: Zn(S-pr-thiosal)₂ complex, breast cancer, apoptosis, cell cycle

The paper is published: Benazic S, Besser Silconi Z, Jevtovic A, Jurisevic M, Milovanovic J, Mijajlovic M, Nikolic M, Kanjevac T, Ivan Potočňák, Samořová E, Ratkovic ZR,

Radic G, Milovanovic M, Pantic J, Arsenijevic N, Radosavljevic GD. The Zn(S-pr-thi-osal)₂ complex attenuates murine breast cancer growth by inducing apoptosis and G1/S cell cycle arrest. *Future Med Chem* 2020; 12(10): 897–914

Funding: This work was funded by grants from the Ministry of Education, Science and Technological Development, Serbia (ON 175069 and ON 175071), the bilateral project with PR China (06/2018), and the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac, Serbia (MP 02/14 and JP 10/18).

ИНТЕРЛЕУКИН 33 И ГАЛЕКТИН-1, НОВИ ПОКАЗАТЕЉИ ПРОГРЕСИЈЕ И ПРОГНОЗЕ COVID-19

Софија Секулић¹, Миодраг Јоцић², Невена Гајовић³, Милена Јуришевић⁴, Марина З. Јовановић⁵,
Небојша Арсенијевић³, Милан Јовановић⁶, Жељко Мијаиловић¹, Марина М. Јовановић⁷,
Слободан Јаковљевић⁸, Иван Јовановић⁵

¹Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука,
Катедра за Инфективне болести

²Војномедицинска академија, Београд, Србија, Институт за трансфузиологију и хемодиологију

³Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука,
Центар за Молекулску Медицину и Истраживање Мајичних Ћелија

⁴Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Клиничку фармацију

⁵Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Оториноларингологију

⁶Војномедицинска академија, Медицински факултет, Београд, Србија, Катедра за абдоминалну хирургију

⁷Универзитет у Крајеву, Србија, Факултет медицинских наука, Катедра за Интерну медицину

⁸ Универзитетски клинички центар Крајева, Србија, Хируршка клиника

САЖЕТАК

Повећање концентрације IL-33 се сматра предиктором тешке инфекције COVID-19, али је његова улога у различитим стадијумима болести још увек нејасна. Галектин 1 (Gal-1) је плеиотропни цитокин укључен у многе имунске и инфламацијске процесе и његова улога у COVID-19 је још увек непозната. Циљ ове студије је био да се утврде системске вредности IL -33 и Gal -1 и корелације између IL -33/Gal -1 и проинфламацијских цитокина и клиничких параметара током прогресије COVID-19. Обухваћено је 220 пацијената оболелих од COVID-19 који су подељени у групена основу тежине болести: блага, средња тешка, критична. Прикупљене су вредности цитокина, клинички, биохемијски, радиографски подаци и анализирана њихова корелација са тежином болести.

Добијени резултати имплицирају да у напреднијој фази COVID-19 повећан IL-33 олакшава инфламацију плућа индукујући производњу различитих урођених проинфламацијских цитокина (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12, IL-23) у неколико циљних ћелија што доводи до најтежих облика болести. IL-33 је у снажној корелацији са клиничким параметрима COVID-19 и може представљати обећавајући маркер, као и терапијски циљ за COVID-19. Модел линеарне регресије и анализа ROC криве указују на Gal-1 као значајан предиктор тежине COVID-19. Приказани резултати имплицирају на имуномодулацију зависну од Gal-1 и IL-10. Прецизан механизам ефекта Gal-1 у COVID-19 и његов потенцијал као маркера стадијума болести тек треба да се разјасни.

Кључне речи: Интерлеукин 33, Галектин 1, COVID-19, тежина болести

Рад је публикован: Sekulic Markovic S, Jovanovic M, Gajovic N, Jurisevic M, Arsenijevic N, Jovanovic M, Jovanovic M, Mijailovic Z, Lukic S, Zornic N, Vukicevic V, Stojanovic J, Maric V, Jovic M and Jovanovic I. IL 33 Correlates With COVID-19 Severity, Radiographic and Clinical Finding. *Frontiers in Medicine* 2021; 8: 749569. doi: 10.3389/fmed.2021.749569

Sekulic Markovic S, Gajovic N, Jurisevic M, Jovanovic M, Popovska Jovicic B, Arsenijevic N, Mijailovic Z, Jovanovic M, Dolicanin Z, Jovanovic I. Galectin-1 as the new player in staging and prognosis of COVID-19. *Scientific Reports* 2022; DOI : 10.1038/s41598-021-04602-z.

Истраживање је финансирано средствима: пројекта Фонда за науку Републике Србије (СИБИРДС), пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја (175069), билатералног пројекта са народном републиком Кином (06/2018).

INTERLEUKIN 33 AND GALECTIN-1, NEW PLAYERS IN STAGING AND PROGNOSIS OF COVID-19

Sofija Sekulic Markovic¹, Miodrag Jovic², Nevena Gajovic³, Milena Jurisevic⁴, Marina Z. Jovanovic⁵, Nebojsa Arsenijevic³, Milan Jovanovic⁶, Zeljko Mijailovic¹, Marina M. Jovanovic⁷, Slobodan Jakovljevic⁸, Ivan Jovanovic³

¹University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Infectious disease

²Military Medical Academy, Belgrade, Serbia, Institute for Transfusiology and Haemobiology

³University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences,
Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research

⁴University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Clinical pharmacy

⁵University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Otorhinolaryngology

⁶Military Medical Academy, Belgrade, Serbia, Department of Abdominal surgery

⁷University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Internal medicine

⁸University Clinical Center Kragujevac, Serbia, Department of Surgery

ABSTRACT

Increased level of IL-33 is considered as a predictor of severe COVID-19 infection, but its role at different stages of disease is still unclear. Galectin-1 (Gal-1) is a pleiotropic cytokine involved in many immune and inflammatory processes and its role in COVID-19 is still unknown. The aim of this study was to determine systemic values of IL-33 and Gal-1 and correlations between IL-33/Gal-1 and proinflammatory cytokines and clinical parameters during COVID-19 progression. 220 COVID-19 patients were included and divided into the groups, mild, moderate severe, critical. Value of cytokines, clinical, biochemical, radiographic data were collected and their correlation with disease severity was analyzed.

Obtained results implicate that in a more progressive stage of COVID-19 increased IL-33 facilitates lung inflammation by inducing the production of various innate proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12, IL-23) in several target cells leading to the most severe forms of the disease. IL-33 strongly correlates with clinical parameters of COVID-19 and might represent a promising marker as well as therapeutic target in COVID-19. Linear regression model and ROC curve analysis point on Gal-1 as significant predictor for COVID-19 severity. Presented results implicate on Gal-1 and IL-10 dependent immunomodulation. The precise mechanism of Gal-1 effect in COVID-19 and its potential as a stage marker of disease severity is still to be clarified.

Key words: IL-33, Galectin 1, COVID-19, disease severity

The paper is published: Sekulic Markovic S, Jovanovic M, Gajovic N, Jurisevic M, Arsenijevic N, Jovanovic M, Jovanovic M, Mijailovic Z, Lukic S, Zornic N, Vukicevic

V, Stojanovic J, Maric V, Jovic M and Jovanovic I. IL 33 Correlates With COVID-19 Severity, Radiographic and Clinical Finding. *Frontiers in Medicine* 2021; 8: 749569. doi: 10.3389/fmed.2021.749569

Sekulic Markovic S, Gajovic N, Jurisevic M, Jovanovic M, Popovska Jovicic B, Arsenijevic N, Mijailovic Z, Jovanovic M, Dolicanin Z, Jovanovic I. Galectin-1 as the new player in staging and prognosis of COVID-19. *Scientific Reports* 2022; DOI : 10.1038/s41598-021-04602-z.

Funding: This work was supported by a grant from the Science Fund of the Republic of Serbia (CIBIRDS), Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (175069), project with PR China (06/2018).

ФАРМАКОЛОШКИ ПОТЕНЦИЈАЛ Д-ПРСТЕНА МОДИФИКОВАНИХ ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИХ СТРОИДА: ИНХИБИЦИЈА ЕНЗИМА КОЈИ КОНВЕРТУЈУ СТРОИДЕ, ИНДУКЦИЈА АПОПТОЗЕ И ЕФЕКТИ НА ГЕНЕ КОЈИ КОДИРАЈУ ЕНЗИМЕ ЗА ИНАКТИВИРАЊЕ ЕСТРОГЕНИХ ХОРМОНА

А.Е. Кулмањ¹, Б.Е. Херман², И. Зупко¹, М. Синрих³, Т. Ланишник Рижнер³, М. Савић⁴, А. Окљеша⁴, А. Николић⁴, В. Нађ¹, И. Очовски⁵, М. Сечи², С. Јовановић-Шанта⁴

¹*Department of Pharmacodynamics and Biopharmacy, Faculty of Pharmacy, University of Szeged, H-6720 Szeged, Hungary*

²*Department of Medicine, University of Szeged, H-6720 Szeged, Hungary*

³*Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia*

⁴*Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental Protection, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, 21000 Novi Sad, Serbia*

⁵*Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Szeged, H-6720 Szeged, Hungary*

САЖЕТАК

Триазолски и тетразолски, као Д-хомо лактонски, деривати естрогена и андрогених хормона синтетисани су уз примену микроталаса. Потенцијал синтетисаних једињења да инхибирају активност C17,20-лијазе and 17 β -HSD1 испитан је *in vitro* тестовима, као и ефекат на гене одговорне за синтезу активних облика полних хормона и ћелијске линије карцинома гинеколошког порекла. Од свих једињења најактивнији је био естрански триазол. Он је у великој мери инхибирао 17 β -HSD1 у присуству NADH – са афинитетом везивања сличном афинитету природног супстрата овог ензима, естрогена, док је инхибиција овог ензима у присуству NADPH коензима била много слабија. Ово једињење је, осим тога, значајно и селективно смањило пролиферацију ћелијских линија гинеколошких канцера; мењало је ћелијски циклус и индуковало апоптозу HeLa, SiHa и MDA-MB-231 ћелија, што је закључено на основу повећаног броја ћелија у subG1 фракцији, као и активирања каспаза-независних сигналних путева. Трећи начин испољавања антиестрогеног ефекта естранског триазола било је повећање експресије и РНК за SULT1E1 ген у HeLa ћелијама. Насупрот томе, 3-бензилетарски аналог овог једињења повећао је експресију и РНК за HSD17B2 ген, понашајући се као једињење потентне про-лек (енгл. pro-drug) антиестрогене активности. Дакле, триазолни дериват естрогена испољава изузетан фармаколошки потенцијал, јер смањује концентрацију активних естрогена (естрадиола), делујући на ензимском, ћелијском и нивоу експресије гена.

Кључне речи: хетеростероиди естрадиола и андростана; инхибиција стероидогених ензима; цитотоксичност; експресија гена ензима стероидогенезе

Рад је објављен: Á.Е. Kulmány, В.Е. Herman, I. Zupkó, М. Sinreih, Т. Lanišnik Rižner, М. Savić, А. Oklješa, А. Nikolić, V. Nagy, I. Ocsovszki, М. Szécsi, S. Jovanović-Šanta, Heterocyclic androstane and estrane D-ring modified steroids: microwave-assisted synthesis, steroid-converting enzyme inhibition, apoptosis induction, and effects on genes encoding estrogen inactivating enzymes, *Jornal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 214 (2021) 105997. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2021.105997>, **IF (2020) 4.294.**

Истраживање је финансирано средствима: Део истраживања је финансира-ло Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Ев. бр.451-03-68/2022-14/200125), као и други програми: the Economic Development and Innovation Operative Programme GINOP-2.3.2-15-2016-00012, the Ministry of Human Capacities, Hungary grant 20391-3/2018/FEKUSTRAT, and the Slovenian Research Agency grants J3-8212 and N1-0066.

PHARMACOLOGICAL POTENTIAL OF D-RING MODIFIED HETEROCYCLIC STEROIDS: STEROID-CONVERTING ENZYME INHIBITION, APOPTOSIS INDUCTION AND EFFECTS ON GENES ENCODING ESTROGEN INACTIVATING ENZYMES

Á.E. Kulmány¹, B.E. Herman², I. Zupkó¹, M. Sinreih³, T. Lanišnik Rižner³, M. Savić⁴, A. Oklješa⁴, A. Nikolić⁴, V. Nagy¹, I. Ocsovszki⁵, M. Szécsi², Lj. Grbović⁴, S. Jovanović-Šanta⁴

¹*Department of Pharmacodynamics and Biopharmacy, Faculty of Pharmacy, University of Szeged, H-6720 Szeged, Hungary*

²*Department of Medicine, University of Szeged, H-6720 Szeged, Hungary*

³*Institute of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia*

⁴*Department of Chemistry, Biochemistry and Environmental Protection, Faculty of Sciences, University of Novi Sad, 21000 Novi Sad, Serbia*

⁵*Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Szeged, H-6720 Szeged, Hungary*

ABSTRACT

D-ring-fused triazole and tetrazole compounds, as well as D-homo lactone compounds, derivatives of estrone or androstane hormones, were synthesized using microwave-assisted reaction conditions. Microwave-irradiated synthesis methods were very convenient and effective. Potential for the inhibition of C17,20-lyase and 17 β -HSD1 activities were studied in in vitro enzyme assays. D-ring-fused triazolyl estrone analog showed potent inhibition of NADH-complexed 17 β -HSD1, with a binding affinity similar to that of the natural substrate of this enzyme, estrone, while its inhibition against NADPH-complexed 17 β -HSD1 was markedly weaker. The same compound significantly and selectively reduced proliferation of cancer cell lines of gynecological origin. This estrane triazole changed the cell cycle and induced apoptosis of HeLa, SiHa, and MDA-MB-231 cancer cells, measured by both increased subG1 fraction of cells and activation of caspase-independent signaling pathways. A third mode of anti-estrogenic action of estrane triazole was increasing of mRNA expression of the SULT1E1 gene in HeLa cells; in contrast, its 3-benzyloxy analog increased mRNA expression of the HSD17B2 gene, thus showing pronounced pro-drug anti-estrogenic activity. In conclusion, estrone-derived D-ring triazole compound thus acts at the enzyme, gene expression and cellular levels to decrease the production of active estrogen hormones, demonstrating its great pharmacological potential.

Key words: estradiol- and androstane-derived heterosteroids; steroidogenic enzyme

inhibition; cytotoxicity; steroidogenesis enzyme genes expression

The paper is published: Á.E. Kulmány, B.E. Herman, I. Zupkó, M. Sinreih, T. Lanišnik Rižner, M. Savić, A. Oklješa, A. Nikolić, V. Nagy, I. Ocsovszki, M. Szécsi, S. Jovanović-Šanta, Heterocyclic androstane and estrane D-ring modified steroids: microwave-assisted synthesis, steroid-converting enzyme inhibition, apoptosis induction, and effects on genes encoding estrogen inactivating enzymes, *Jornal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 214 (2021) 105997. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2021.105997>, **IF (2020) 4.294**.

Funding: Financial support for this study was provided by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Grant No. 451-03-68/2022-14/200125), the Economic Development and Innovation Operative Programme GINOP-2.3.2-15-2016-00012, the Ministry of Human Capacities, Hungary grant 20391-3/2018/FEKUSTRAT, and the Slovenian Research Agency grants J3-8212 and N1-0066.

АНТИМЕТАСТАТСКИ ЕФЕКАТ ПРЕНИЛФЛАВОНОИДА ИЗОКСАНТОХУМОЛА НА B16-F10 МОДЕЛУ МИШЈЕГ МЕЛАНОМА

Тамара Крајновић¹, Дијана Драча¹, Горан Н. Калуђеровић², Душко Дунђеровић³, Ивана Мирков¹,
Ludger A. Wessjohann⁴, Данијела Максимовић-Иванић¹, Сања Мијатовић¹

¹Институт за биолошка истраживања „Синиша Сijanковић” –

Институт од националној значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

²Одељење за инжењерство и природне науке, Универзитет примењених наука Мерзебурџ,
Мерзебурџ, Немачка;

³Институт за физиологију, Медицински факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија;

⁴Одељење за биоорганску хемију, Лајбниц институт за дубоку биохемију, Хале (Зале), Немачка

САЖЕТАК

Пренилфлавоноид из хмеља, изоксантохумол (IXN) данас привлачи велику пажњу због свог широког спектра биолошких активности. Ова студија је имала за циљ да истражи његова потенцијална антимастистатска својства на високо инвазивној хелијској линији меланома B16-F10 *in vitro* и *in vivo*, у контексту његовог самосталног деловања или у комбинацији са хемотерапијом. Третман IXN је смањив вијабилитет хелија меланом на дозно зависан начин, што је последица индуковане комбиноване хелијске смрти аутофагијом и апоптозом зависном од каспаза. Поред тога, овај изофлаванон је снажно инхибирао деобу високо пролиферативних хелија меланом као и клоногени потенцијал преживелих хелија, указујући на промене у њиховим мастистатским карактеристикама. Сагласно томе, IXN је супримирао процесе који дефинишу мастистазирање као што су хелијска адхезија, миграција и инвазија, ометајући интегрински сигнални пут. Примена IXN је инхибирала развој мастистатских жаришта у плућима експерименталних животиња. Иако је IXN појачао дејство хемотерапеутика паклитаксела (РСТ) *in vitro*, истовремени третман ова два агенса није довео до статистички значајне супресије у формирању плућних мастистаза. Са друге стране, промена динамике давања агенаса у виду 7-дневног третмана животиња IXN пре апликације РСТ учинила је ефикасном субтерапеутску дозу РСТ, што се може приписати његовом капацитету да диферентује B16-F10 хелије ка мање инвазивном фенотипу и тиме их сензитизује на хемотерапију. Уз хистопатолошку потврду промене фенотипа хелија у мастистазама, овај податак указује на значајан допринос процеса диференцијације успешности исхода хемотерапије. Ова студија представља први доказ антимастистатске активности IXN *in vivo* и значајно доприноси успостављању концепта диференцијационе терапије у подршци лечењу мастистатских малигнитета.

Кључне речи: меланом, пренилфлавонид, хемотерапија, адхезија, миграција, инвазија, хемосензитизација, диференцијација

Рад је публикован: Krajnović T, Drača D, Kaluđerović GN, Dunderović D, Mirkov I, Wessjohann LA, Maksimović-Ivanić D, Mijatović S. The hop-derived prenylflavonoid isoxanthohumol inhibits the formation of lung metastasis in B16-F10 murine melanoma model. *Food Chem Toxicol.* 2019 Jul; 129:257-268. doi: 10.1016/j.fct.2019.04.046.

Истраживање је финансирано средствима: Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, Лајбниц институт за биљну биохемију, Хале, из Немачке службе за академску размену (ДААД) и Хопштајнер (Simon H. Steiner Hopfen GmbH).

ANTIMETASTATIC EFFECT OF PRENYLFLAVONOID ISOXANTHOTHUMOL ON B16-F10 MURINE MELANOMA MODEL

Tamara Krajnović¹, Dijana Drača¹, Goran N. Kaluđerović², Duško Dunderović³, Ivana Mirkov¹, Ludger A. Wessjohann⁴, Danijela Maksimović-Ivanić¹, Sanja Mijatović¹

¹*Institute for Biological Research "Siniša Stanković" – National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;*

²*Department of Engineering and Natural Sciences, University of Applied Sciences Merseburg, Merseburg, Germany;*

³*Institute of Pathology, School of Medicine, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;*

⁴*Department of Bioorganic Chemistry, Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle (Saale), Germany*

ABSTRACT

A prenylflavonoid from hops, isoxanthohumol (IXN) is gaining a lot of attention nowadays due to its broad spectrum of biological activities. This study aimed to investigate its potential antimetastatic properties in vitro against the highly invasive melanoma cell line B16-F10 and in a murine metastatic model in vivo, in the context of independent action and interaction with chemotherapy. The treatment with IXN diminished cell viability in a dose-dependent manner, which is a consequence of induced combined cell death by autophagy and caspase-dependent apoptosis. Additionally, the dividing potential of highly proliferative melanoma cells was dramatically affected by IXN, and is in line with an abrogated clonogenic potential in the population of survived cells, indicating changes in their metastatic features. Concordantly, IXN strongly diminished cell metastatic features down-regulating adhesion, migration, and invasion through disrupted integrin signaling. Separate application of IXN inhibited the development of lung metastatic foci in tumor-challenged animals. Although IXN potentiated the action of chemotherapeutic drug paclitaxel (PCT) in vitro, the concomitant treatment of these two agents did not exert statistically significant suppression of lung metastases formation. Nonetheless, the change in the regime of drugs' application to 7-day treatment with IXN prior to PCT made the subtherapeutic dose of PCT effective, indicating IXNs' capacity to trigger the differentiation of B16-F10 cells toward a less invasive phenotype, thus sensitizing them to chemotherapy. Along with histopathological confirmation of changes in cell phenotype in metastases, this data underlines the important impact of the differentiation process on chemotherapy efficacy. This study represents the first proof of IXNs' antimetastatic activity in vivo and significantly contributes to the development of the differentiation therapy concept as a support in the treatment of metastatic malignancies.

Key words: melanoma, prenylflavonid, chemotherapy, adhesion, migration, invasion, chemosensitization, differentiation

The paper is published: Krajnović T, Drača D, Kaluđerović GN, Dunderović D, Mirkov I, Wessjohann LA, Maksimović-Ivanić D, Mijatović S. The hop-derived prenylflavonoid isoxanthohumol inhibits the formation of lung metastasis in B16-F10 murine melanoma model. *Food Chem Toxicol.* 2019 Jul; 129:257-268. doi: 10.1016/j.fct.2019.04.046

Funding: Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia, Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle, from the German Academic Exchange Service (DAAD), and Hopsteiner (Simon H. Steiner Hopfen GmbH).

УТИЦАЈ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА ДНК МЕТИЛТРАНСФЕРАЗЕ (ДНМТ1 И ДНМТ3Б) НА ТОК И ИСХОД МЕЛАНОМА

Хелена Марић Кујунџић, Синиша Којић, Радмил Марић, Вељко Марић, Бојан Кујунџић,
Мирослав Обреновић, Раденко Ивановић, Ненад Лаловић, Раде Милетић,
Далибор Потпара, Звонко Магић

*Клиника за хирургију, Универзитетска Болница Фоча
Медицински факултет Фоча, Универзитет Источно Сарајево.*

САЖЕТАК

Циљеви: Аберантна метилација ДНК има критичну улогу у низу различитих малигнитета, укључујући меланом. Метилацију ДНК катализују ДНК метилтрансферазе (ДНМТ), укључене у одржавање метилације (ДНМТ1) и де ново метилацију ДНК (ДНМТ3А и ДНМТ3Б). Наша студија је истраживала повезаност генетских варијанти у ДНМТ1 и ДНМТ3Б са клиничко-патолошким карактеристикама и клиничким током пацијената са меланомом.

Методe: Наша студија је испитивала полиморфизме ДНМТ1 (rs2228612, rs2228611 и rs2114724) и ДНМТ3Б (rs406193 и rs2424932) код 123 пацијента са меланомом. Полиморфизми појединачних нуклеотида су процењени помоћу TaqMan SNPs Genotyping Assay (Applied Biosystems, Foster City, CA, SAD), у складу са протоколима произвођача.

Резултати: Носиоци варијантног генотипа ДНМТ1 rs2228612 имали су лошије укупно преживљавање (OS) и преживљавање без рецидива (RFS), ($p=0,000$ и $p=0,000$, респективно), и повећан ризик за нежељени исход ($HR=6,620$, [2,214-19,791], 95% интервал поверења [CI], $p=0,001$). ДНМТ1 rs2228612 је такође био повезан са улцерацијом ($p=0,045$), нодалним статусом ($p=0,030$), прогресијом ($p=0,007$) и стадијумом болести ($p=0,003$). Униваријантна анализа је показала да лимфоцити који инфилтрирају тумор (ТИЛ) могу бити маркер добре прогнозе код пацијената са меланомом ($HR=0,323$, [0,127-0,855] 95% CI, $p=0,025$), док је дистрибуција генотипа ДНМТ3Б rs406193 значајно повезана са присуством (ТИЛ) ($p=0,012$). Мултиваријантна анализа је открила да су полиморфизам ДНМТ1 rs2228612 ($HR=12,126$ [2,345-62,715] 95% CI, $p=0,003$) и прогресија болести ($HR=37,888$ [3,615-397,060], $p=0$) независна од укупног преживљавања код пацијената са меланомом.

Закључци: Полиморфизми ДНМТ-а могу бити молекуларни фактори ризика и потенцијалне мете за нове терапијске приступе у третману меланома. ДНМТ1 rs2228612 може утицати на клинички ток и исход пацијената са меланомом.

Кључне речи: меланом; полиморфизми појединачних нуклеотида; ДНК метилтрансферазе; ДНМТ1; ДНМТ3Б; ТИЛ; преживљавање.

Рад је публикован: Helena Marić, Gordana Šupić, Lidija Kandolf-Sekulović, Veljko Marić, Željko Mijušković, Tatjana Radević, Milic Rajović, Zvonko Magić Melanoma Research 2019 Dec;29(6):596-602 Doi:10.1097/CMR 0000000000000612.

DNMT1 AND DNMT3B GENETIC POLYMORPHISMS AFFECT CLINICAL COURSE AND OUTCOME OF MELANOMA PATIENTS

Helena Maric Kujundzic, Sinisa Kojic, Radmil Maric, Veljko Maric, Bojan Kujundzic, Miroslav Obrenovic, Radenko Ivanovic, Nenad Lalovic, Rade Miletic, Dalibor Potpara, Zvonko Magic

*University Hospital Foča
Faculty of Medicine Foča, University East Sarajevo*

ABSTRACT

Objectives: The aberrant DNA methylation has a critical role in number of different malignancies, including melanoma. DNA methylation is catalyzed by DNA methyltransferases (DNMTs), involved in methylation maintenance (DNMT1) and de novo DNA methylation (DNMT3A and DNMT3B). The current study investigated the association of genetic variants in the DNMT1 and DNMT3B with clinico-pathological features and clinical course of melanoma patients.

Methods: Current study examined DNMT1 (rs2228612, rs2228611 and rs2114724) and DNMT3B (rs406193 and rs2424932) polymorphisms in 123 melanoma patients. Single nucleotide polymorphisms were assessed by TaqMan SNPs Genotyping Assays (Applied Biosystems, USA), according to the manufacturer's protocols.

Results: The carriers of variant genotype of DNMT1 rs2228612 had poorer overall survival (OS) and recurrence-free survival (RFS), ($p=0.000$ and $p=0.000$, respectively), and an increased risk for adverse outcome (HR= 6.620, [2.214-19.791], 95% confidence interval [CI], $p=0.001$). DNMT1 rs2228612 was also associated with ulceration ($p=0.045$), nodal status ($p=0.030$), progression ($p=0.007$) and stage of disease ($p=0.003$). Univariate analysis indicated that tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) could be a marker of good prognosis in melanoma patients (HR=0.323, [0.127-0.855] 95% CI, $p=0.025$), while genotype distribution of DNMT3B rs406193 polymorphism significantly correlated with the presence of (TILs) ($p=0.012$). The multivariate analysis revealed that DNMT1 rs2228612 polymorphism (HR=12.126 [2.345-62.715] 95% CI, $p=0.003$) and disease progression (HR=37.888 [3.615-397.062], $p=0.002$) are independent predictors of poor overall survival in melanoma patients.

Conclusions: DNMTs polymorphisms might be molecular risk factors in melanoma and potential targets for novel therapeutic approaches. DNMT1 rs2228612 could affect the clinical course and outcome of melanoma patients.

Key words: Melanoma; Single Nucleotide Polymorphisms; DNA methyltransferases; DNMT1; DNMT3B; TIL; Survival

The paper is published: Maric H, Supic G, Kandolf-Sekulovic L, Maric V, Mijuskovic Z, Radevic T, Rajovic M, Magic Z. DNMT1 and DNMT3B genetic polymorphisms affect the clinical course and outcome of melanoma patients. *Melanoma Res.* 2019 Dec;29(6):596-602. doi: 10.1097/CMR.0000000000000612. PMID: 30950914. IF=3.599

НЕУТРАЛИЗАЦИОНИ ТЕСТ НА БЕСНИЛО НА КУЛТУРИ ЋЕЛИЈА МОДИФИКОВАН ЗА ОДРЕЂИВАЊЕ АНТИТЕЛА НА ВИРУС КОРОНЕ (SARS-COV-2)

Душан Лалошевић^{1,2}, Срђан Станков¹, Драгана Вујин¹, Дејан Видановић³,
Александра Кнежевић⁴, Весна Лалошевић⁵

¹Пастеров завод Нови Сад

²Медицински факултет Нови Сад

³Ветеринарски специјалистички институт „Краљево“

⁴Медицински факултет Београд

⁵Пољопривредни факултет Нови Сад

САЖЕТАК

Увод

Нови пандемијски корона вирус поставио је нове задатке вирусолошким и имунолошким лабораторијама, поред доказивања вирусног антигена, потребно је и мерење нивоа антитела из епидемиолошких разлога, али и у процени индивидуалног одговора на вакцинацију. У бројним лабораторијама развијени су неутрализациони тестови са живим вирусом пандемијске короне, који се сматрају златним стандардом за мерење нивоа антитела. Ми смо неутрализациони тест на култури ћелија који радимо рутински на беснило, адаптирали за одређивање антитела на вирус короне.

Материјал и методе

Изолација вируса рађена је класичном техником на култури веро ћелија. Брисеви пацијената код којих је брзим антигенским тестом доказана инфекција пандемијским корона вирусом суспендовани су у подлози за културу ћелија без серума, профильтрирани кроз мембран филтер (Millipore 0,22), те инокулисани на израсле веро ћелије у монослоју. Културе су праћене дневно, до појаве цитопатогеног ефекта, а бербе вируса су смрзнуте на -20 степени. Типизација изолата рађена је у Ветеринарском специјалистичком институту у Краљеву и на Медицинском факултету у Београду. Неутрализациони тест на антитела против беснила (FAVN - Fluorescent Antibody Virus Neutralisation) применили смо са нашим изолатима корона вируса (SARS-CoV-2) на плочама са 96 бунара, као петострука разређења испитиваних серума. Након инкубације од 1 сат на 37 степени, додата је свеже трипсинизирана култура веро ћелија и инкубација настављена 5 дана, до читавања теста. За компарацију са неутрализационим тестом серуми 11 испитаника су тестирани и у комерцијалном ELFA SARS-COV-2 IgG тесту.

Резултати и дискусија

Изоловали смо три агенса који су давали цитопатогени ефекат на веро ћелијској култури. Типизацијом је утврђено да су изоловани сојеви колоквијално названи британски, делта и омикрон. Титрови вирусних берби кретали су се од 4-7 logCCID50/mL. Инактивација берби вируса урађена је бета-пропиолактоном, 1:1000. Инактивисани вирус са додатком алуминијум-адјуванса употребљен је за имунизацију мишева ради добијања стандардног серума за тест. Корелација нашег теста са комерцијалним по Пирсону била је одлична, 95%. Стандардизација неутрализационих тестова на корона вирус на међународном нивоу још није постигнута. Наш рад је прилог томе.

Кључне речи: Неутрализациони тест, беснило, корона-вирус, SARS-CoV-2

Рад је објављен: Lalošević D, Stankov S, Bojat V, Lazić S, Petrović T, Vidanović D, Vujin D, Simin V, Lalošević V. NOVI KORONA-VIRUS (SARS-CoV-2) IZOLATI NOVI SAD 2021, IDENTIFIKACIJA I INAKTIVACIJA. MD-Medical Data 2021;13(2): 055-058. UDK: 578.834(497.113)”2021.

Истраживање је финансирано средствима: Покрајински секретаријат за високо образовање и научноистраживачку делатност број 142-451-2626/2021-01.

CELL CULTURE RABIES NEUTRALIZATION TEST MODIFIED TO DETECT CORONAVIRUS ANTIBODIES (SARS-COV-2)

Dušan Lalošević^{1,2}, Srdjan Stankov¹, Dragana Vujin¹, Dejan Vidanović³,
Aleksandra Knezević⁴, Vesna Lalošević⁵

¹*Pasteur Institute Novi Sad*

²*Faculty of Medicine Novi Sad*

³*Veterinary Specialist Institute "Kraljevo"*

⁴*Faculty of Medicine Belgrade*

⁵*Faculty of Agriculture Novi Sad*

ABSTRACT

Introduction

The new pandemic corona virus has set new tasks for virological and immunological laboratories, in addition to proving viral antigen, it is necessary to measure antibody levels for epidemiological reasons, but also to assess the individual response to vaccination. Neutralization tests with live pandemic coronavirus have been developed in a number of laboratories, which are considered the gold standard for measuring antibody levels. We adapted the neutralization test on cell culture, which we routinely do to rabies, to determine antibodies to the corona virus.

Material and methods

Isolation of the virus was done by the classic technique on Vero cell culture. Swabs of patients diagnosed with pandemic coronavirus infection by rapid antigen testing were suspended in serum-free cell culture medium, filtered through a membrane filter (Millipore 0.22), and inoculated into Vero cells in monolayer. Cultures were monitored daily until the appearance of cytopathogenic effect, and virus harvests were frozen at -20 degrees. Typing of isolates was performed at the Veterinary Specialist Institute "Kraljevo" and at the Faculty of Medicine in Belgrade.

Fluorescent Antibody Virus Neutralization (FAVN) test was applied with our coronavirus isolates (SARS-CoV-2) on 96-well plates as a five-fold dilution of test sera. After incubation for 1 hour at 37 degrees, fresh trypsinized Vero cell culture was added and incubation was continued for 5 days, until the test was read. For comparison with the neutralization test, the sera of 11 subjects were also tested by the commercial ELFA SARS-COV-2 IgG test.

Results and Discussion

We isolated three agents that had a cytopathogenic effect on Vero cell culture. By molecular typing, it was determined that the isolated strains were colloquially named

British, Delta and Omicron. Viral harvest titers ranged from 4-7 logCCID₅₀ / mL. Inactivation of virus harvest was done with beta-propiolactone, 1: 1000. The inactivated virus with the addition of aluminum adjuvant was used to immunize the mice to obtain a standard serum for the test. The correlation of our test with the commercial one according to Pearson was excellent, 95%. Standardization of corona virus neutralization tests at the international level has not yet been achieved. Our work is a contribution to that.

Key words: Neutralization test, rabies, coronavirus, SARS-CoV-2

The paper is published: Lalošević D, Stankov S, Bojat V, Lazić S, Petrović T, Vidanović D, Vujin D, Simin V, Lalošević V. NOVEL CORONAVIRUS (SARS-CoV-2) ISOLATES NOVI SAD 2021, IDENTIFICATION AND INACTIVATION. MD-Medical Data 2021;13(2): 055-058. UDK: 578.834(497.113)“2021.

Funding: Provincial Secretariat for Higher Education and Scientific Research No. 142-451-2626 / 2021-01.

IL-33 СМАЊУЈЕ ЗАПАЉЕЊЕ У МОДЕЛУ НЕУРОИНФЛАМАЦИЈЕ ИЗАЗВАНЕ СИСТЕМСКОМ ПРИМЕНОМ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

Јелена Димитријевић^{1,2}, Александар Арсенијевић¹, Владимир Марковић¹, Бојана Стојановић^{1,3}, Драгана Арсенијевић^{1,4}, Јелена Миловановић^{1,5}, Жељко Тодоровић^{1,6}, Небојша Арсенијевић¹, Марија Миловановић¹

¹Центар за молекулску медицину и истраживање мајичних ћелија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

²Капедра за медицинску статистику и информатику

³Капедра за патолошку физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁴Капедра за фармацију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁵Капедра за хистологију и ембриологију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

⁶Капедра за интерну медицину, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву

САЖЕТАК

Акумулација β амилоида индукује оштећење неурона и разарање синапси, што за последицу има развој когнитивних и бихејвиоралних поремећаја. Резултати студија на животињама показују да су продужена неуроинфламација и активација микроглије изазвани интраперитонеалном применом липополисахарида (LPS, од енгл. Lipopolysaccharide) довољни да индукују формирање депозита β амилоида у ЦНС-у мишева и когнитивне поремећаје, па је важно проучавање молекула са могућом улогом у редукцији неуроинфламације која доприноси одржавању неуродегенеративних промена. Као последица третмана интерлеукином 33 код мишева са спонтаним таложењем амилоида β у мозгу се смањује количина солубилног амилоида β услед појачане фагоцитне активности микроглије. Циљ спроведеног истраживања био је да се утврди улога интерлеукина 33 у развоју неуроинфламације код мишева која је изазвана седмодневном системском применом LPS-а. У истраживању су коришћени BALB/c ST2 дефицијентни мишеви и wild type (WT) мишеви. У мозгу ST2 дефицијентних мишева третираних LPS-ом је имунохистохемијском методом детектован већи број Iba-1 позитивних ћелија него у мозгу BALB/c WT мишева третираних LPS-ом. Са друге стране, регистровано је смањење броја Iba-1 позитивних ћелија које имају морфологију активираних микроглије у можданом ткиву BALB/c WT мишева који су упоредо са LPS-ом третиран и интерлеукином 33. Код исте групе мишева је применом проточне цитометрије уочен већи проценат активираних (CD40+) микроглије (CD46+CD11b^{med}) у односу на мишеве третиране само LPS-ом, као и већи проценат микроглије која експримира маркер алтернативне активације CD206. Такође, уочена је и већа заступљеност микроглије која експримира антиинфламацијски цитокин IL-10. Већи проценат ћелија микроглије које експримирају IL-1 β уочен је у мозгу ST2 дефи-

цијентних мишева у поређењу са остале две групе мишева, као и већа експресија IL-1 β и NLRP3 инфламазома (ниво иРНК). На основу резултата добијених овим истраживањем, може се закључити да третман интерлеукином-33 подстиче алтернативну активацију микроглије код мишева третираних LPS-ом у току седам дана, системски и тако смањује неуроинфламацију.

Кључне речи: LPS, неуроинфламација, IL-33, ST2, микроглија

Истраживање је финансирано средствима: Истраживање је финансирано средствима Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ОИ175069), билатералним пројектом са НР Кином (06/2018) и средствима Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (ЈР 18/19 и ЈР 19/19).

IL-33 REDUCES INFLAMMATION IN A MODEL OF NEUROINFLAMMATION CAUSED BY SYSTEMIC ADMINISTRATION OF LIPOPOLYSACCHARIDE

Jelena Dimitrijevic^{1,2}, Aleksandar Arsenijevic¹, Vladimir Markovic¹, Bojana Stojanovic^{1,3}, Dragana Arsenijevic^{1,4}, Jelena Milovanovic^{1,5}, Zeljko Todorovic^{1,6}, Nebojsa Arsenijevic¹, Marija Milovanovic¹

¹*Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

²*Department of Medical statistics and informatics, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

³*Department of Pathophysiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

⁴*Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

⁵*Department of Histology and Embriology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

⁶*Department of Internal Medicine, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia*

ABSTRACT

Accumulation of β amyloid induces neuronal damage and destruction of synapses resulting in the development of cognitive and behavioral disorders. The results of animal studies show that prolonged neuroinflammation and activation of microglia induced by intraperitoneal administration of lipopolysaccharide (LPS) are sufficient to induce the formation of β amyloid deposits in the CNS of mice and cognitive impairment, so it is important to study molecules with a potential role in the reduction of neuroinflammation, contributing thus to the maintenance of neurodegenerative impairment. As a result of interleukin 33 (IL-33) treatment of mice with spontaneous deposition of amyloid β in the brain, the amount of soluble amyloid β decreases due to increased phagocytic activity of microglia. The aim of this research was to determine the role of IL-33 in development of neuroinflammation in mice caused by systemic administration of LPS for seven days. In this study BALB/c ST2 deficient and wild type (WT) mice were used. More Iba-1 positive cells were detected by immunohistochemistry in the brains of ST2 deficient mice treated with LPS, compared to group of BALB/c WT mice treated with LPS. On the other hand, a decrease in the number of Iba-1 positive cells with morphology of activated microglia was noticed in the brains of BALB/c WT mice treated with LPS and IL-33. In the same group of mice, flow cytometry showed a higher percentage of activated (CD40+) microglia (CD46 + CD11bmed) compared to LPS-treated mice, as well as a higher percentage of microglia expressing the marker of alternative activation, CD206. Higher frequency of microglia expressing the anti-inflammatory cytokine IL-10 was also detected in LPS and IL-33 treated WT mice. A higher percentage of microglia cells expressing IL-1 β was observed in the brains of ST2 deficient mice compared to the other two groups, as well as higher expression of IL-1 β and NLRP3 inflammasome (mRNA levels). These results indicate that the treatment with IL-33 stimulates alternative activation of microglia and reduces neuroinflammation in mice induce by systemic application of LPS for seven days.

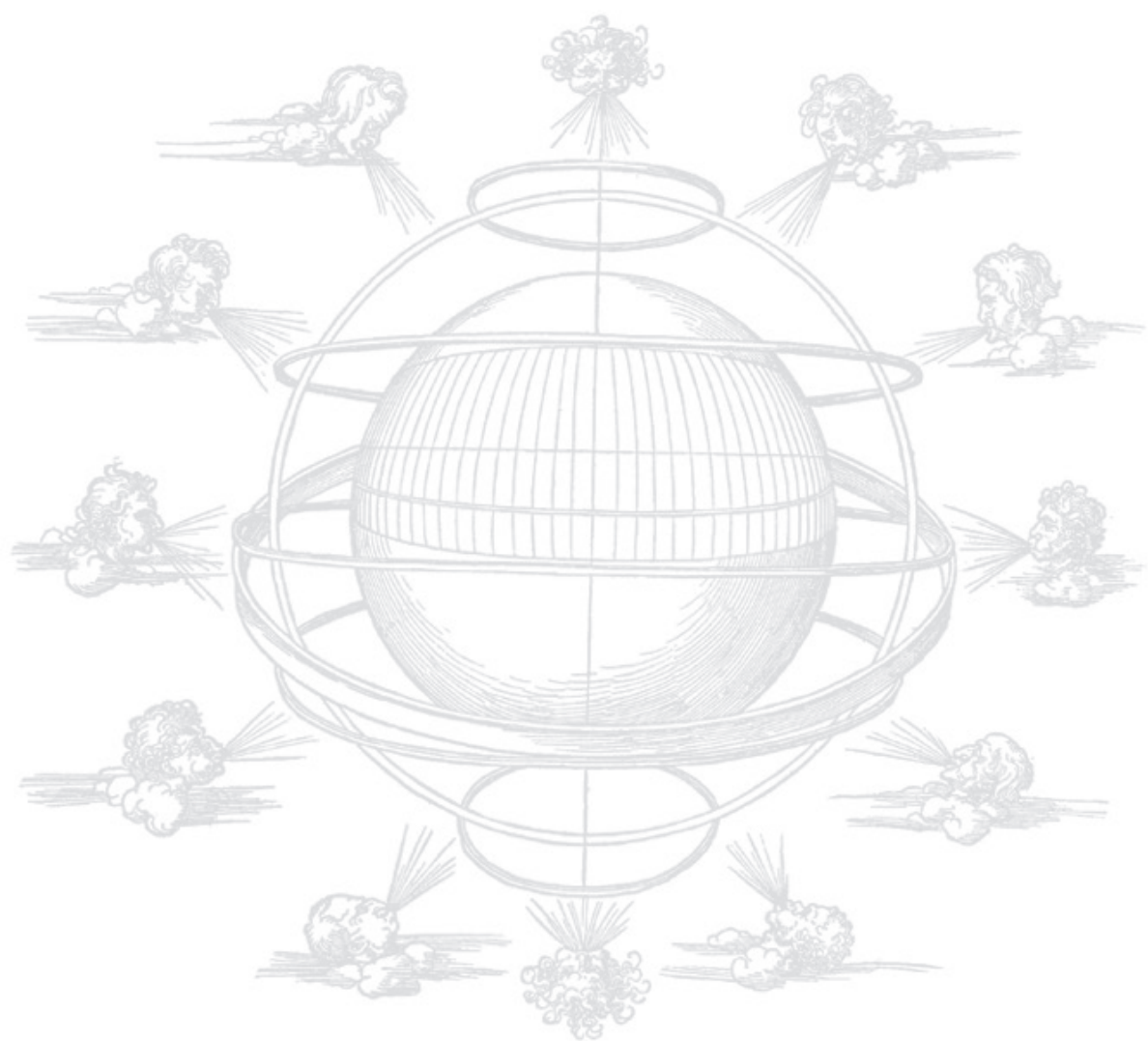
Key words: LPS, neuroinflammation, IL-33, ST2, microglia

Funding: The research was funded by the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (OI175069), a bilateral project with the People's Republic of China (06/2018) and the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac (JP 18/19 and JP 19/19).

СПИСАК АУТОРА

- А.Е. Кулмањ 146
Александар Арсенијевић 43, 50, 53, 98, 108, 116, 160
Александар Ацовић 12
Александар Илић 50
Александра Кнежевић 156
Александра Корићанац 14
Александра Томић Лучић 14
А. Николић 146
Ана С. Живановић 17, 70
Ана Игић 12
Андриана М. Букоњић 17, 70
Анђела Петровић 64, 76, 106
Anđela A. Franich 134
А. Окљеша 146
Б.Е. Херман 146
Биљана Шмит 21
Благоје Мурганић 78, 94
Бојан Јоксимовић 23, 82, 124
Бојан Кујунџић 124, 154
Бојан Стојановић 27
Бојана Давидовић 124
Бојана Симоновић Марковић 12, 14, 108, 134, 138
Бојана Стојановић 27, 43, 53, 98, 108, 116, 160
Борис Ђуран 72, 102
Бошко Милев 84
Бранимир Радмановић 14
Ваља Карађиновић 92
Вељко Марић 64, 84, 124, 154
Весна Вуковић Дејановић 84
Весна Лалошевић 156
Владимир Марковић 76, 108, 160
Владимир Ристић 12
Владислав Воларевић 12, 31, 47, 50
В. Нађ 146
Горан Н. Калуђеровић 39, 150
Горан Поповић 136
Гордана Д. Радосављевић 14, 27, 53, 134, 138
Гордана П. Радић 17, 70, 138
Горица Цвијановић 21
Далибор Потпара 154
Данијела Максимовић-Иванић 35, 39, 128, 130, 150
Данило Војводић 72, 102
Дејан Боковић 136
Дејан Видановић 156
Дејана Ракић 116
Дијана Драча 39
Драган Манојловић 43
Драгана Арсенијевић 43, 53, 98, 108, 160
Драгана Вујин 156
Драгана Вучевић 23, 62, 82
Драгана Милорадовић 47, 50
Драгица Павловић 47, 50
Душан Лалошевић 156
Душан Михајловић 82, 136
Душан Љ. Томовић 17, 70
Душан Ђоћић 17
Душко Дунђеровић 150
Ђуро Коруга 35
Erika Samořlová 138
Жана Бесер Силкони 53
Жељко Мијаиловић 106, 124, 142
Жељко Тодоровић 53, 98, 108, 160
Живка Ери 56
Звонко Магић 154
Зора Дајић-Стевановић 58, 128
Зоран Ратковић 70, 138
Зорана Марић Остојић 60
Иван Јовановић 27, 60, 68, 76, 106, 124, 128, 142
Ivan Potočňák 138
Ивана Мајсторовић 82
Ивана Мирков 150
Игор Кодранов 43
И. Зупко 146
И. Очовски 146
Јелена Богдановић Пристов 39
Јелена Димитријевић 98, 108, 160
Јелена Миловановић 43, 53, 98, 108, 116, 138, 160
Јелена Пантић 14, 27, 53, 134, 138
Јелена Стојишић 78
Јована Богојески 17, 70

Јована Вуковић 72, 102
Јована Јоксимовић Јовић 116
Катарина Виријевић 21
Константина М Станковић 88
Ludger A. Wessjohann 39, 150
Љиљана Козић 136
Mariano Sanz 72
Марија Бићанин Илић 116
Марија Дракул 62, 136
Марија Д. Живковић 134,
Марија Миловановић 43, 53, 98, 108, 116, 138, 160
Марија Пергал 43
Маријана Васић 21
Маријана Милановић 23, 82
Марина Бекић 23, 62, 82
Марина З. Јовановић 60, 68, 76, 106, 142
Марина М. Јовановић 60, 76, 84, 106, 142
Марина Ж. Мијајловић 17, 70, 138
Миа Ракић 12, 72, 102, 112
Милан Јовановић 60, 64, 84, 142
Милена Јуришевић 27, 60, 64, 68, 76, 84, 106, 124,
138, 142
Милица Димитријевић Стојановић 27
Милица Величковић 12
Милица Недељковић 78
Милош Васиљевић 23, 62, 82, 136
Милош Милосављевић 60
Милош В. Николић 17, 70, 138
Милош Симић 43
Миодраг Јоцић 60, 64, 84, 142
Миодраг Лукић 27
Миодраг Стојковић 88
Миодраг Чолић 23, 62, 82, 90, 136
Мирјана Бакић 92
Мирјана Варјачић 116
Мирјана Веселиновић 14
Мирослав Обреновић 154
М. Савић 146
М. Сечи 146
М. Синрих 146
Нада Цицмил-Сарић 92
Наста Танић 58, 78, 94, 120
Наталиа Соловјова 98
Наташа Здравковић 64, 84
Наташа Пејчић 72, 102, 112
Небојша Арсенијевић 14, 27, 43, 47, 53, 58, 60, 64, 68,
76, 84, 98, 106, 108, 124, 128, 134, 138, 142, 160
Невена Видојевић 60
Невена Гајовић 27, 60, 64, 68, 76, 84, 106, 124, 142
Невена Лађевац 108
Неда Перуновић 72, 102, 112
Нејла Адемовић 78, 94
Ненад Лаловић 154
Никола Јовић 116
Никола Милашевић 92
Никола Недељковић 17, 70
Никола Танић 58, 78, 94, 120, 128
Олга Цветковић 43
Петар Б. Станић 21
Петра Стојковић 88
Раде Милетић 154
Раденко Ивановић 154
Радмил Марић 154
Ружица Лукић 60, 124
Салмин Салковић 92
Сања Зорнић 134
Сања Јелача 128
Сања Лекић 92
Сања Мијатовић 35, 39, 58, 128, 130, 150
Сара Ракочевић 136
Саша Беназић 53, 138
Саша Чакић 112
Сергеј Томић 23, 62, 82
Синиша Којић 154
Слободан Јаковљевић 60, 64, 68, 76, 106, 124, 142
Снежана Јовановић- Стевић 17, 70
Снежана Рајковић 134
Софија Секулић 60, 68, 76, 106, 142
Срђан Станков 156
Стефан Колашинац 58
Сузана Јовановић-Шанта 146
Тамара Крајновић 39, 150
Татјана Драмићанин 94
Татјана Ђукић 39
Татјана Кањевац 12, 58
Тијана Томић 78, 94
Т. Ланишник Рижнер 146
Франциско Мануел Ортуњо Гузман 88
Хелена Марић Кујунџић 154
Хоакин Допазо 88



CIP

