

ПРИСТУПНА
ПРЕДАВАЊА
ДОПИСНИХ ЧЛАНОВА

БЕОГРАД • 2019



1841-2019

*Српска академија наука и уметности
178 година*



ПРИСТУПНА ПРЕДАВАЊА
ДОПИСНИХ ЧЛАНОВА

Књига I

ISSN 2683-4251

SERBIAN ACADEMY OF SCIENCES AND ARTS

PRESIDENCY

INAUGURAL LECTURES OF THE CORRESPONDING MEMBERS

Volume 1

The volume is published on account of the SASA
Presidency resolution adopted at its 1st session of 28
February 2019 and the SASA Executive Board resolution
adopted at its 18th session of 19 September 2019

Editor

academician
MIRO VUKSANOVIĆ

BELGRADE
2019

СРПСКА АКАДЕМИЈА НАУКА И УМЕТНОСТИ

ПРЕДСЕДНИШТВО

**ПРИСТУПНА ПРЕДАВАЊА
ДОПИСНИХ ЧЛАНОВА**

Књига 1

Књига је објављена на основу одлуке Председништва
САНУ са I седнице 28. фебруара 2019. и одлуке
Извршног одбора САНУ са XVIII седнице
19. септембра 2019. године

Уредник

академик
МИРО ВУКСАНОВИЋ

БЕОГРАД
2019

SASA PRESIDENCY

academician Vladimir S. Kostić,
President of SASA

academician Zoran V. Popović,
Vice President of SASA for Natural Sciences

academician Ljubomir Maksimović,
Vice President of SASA for Social Sciences

academician Marko Anđelković,
Secretary General of SASA

academician Stevan Pilipović,
President of SASA Branch in Novi SAD

academician Ninoslav Stojadinović,
President of SASA Branch in Niš

academician Gradimir Milovanović,
*Secretary of the Department of Mathematics,
Physics and Geo Sciences*

academician Vladimir Stevanović,
*Secretary of the Department of Chemical
and Biological Sciences*

academician Zoran Lj. Petrović,
Secretary of the Department of Technical Sciences

academician Dragan Micić,
Secretary of the Department of Medical Sciences

academician Zlata Bojović,
Secretary of the Department of Language and Literature

academician Kosta Čavoški,
Secretary of the Department of Social Sciences

academician Mihailo Vojvodić,
Secretary of the Department of Historical Sciences

academician Milan Lojanica,
Secretary of the Department of Fine Arts and Music

ПРЕДСЕДНИШТВО САНУ

академик Владимир С. Костић,
п̄редседник САНУ

академик Зоран В. Поповић,
п̄ошп̄редседник САНУ за п̄риродне науке

академик Љубомир Максимовић,
п̄ошп̄редседник САНУ за друшп̄вене науке

академик Марко Анђелковић,
п̄енерални секретар САНУ

академик Стеван Пилиповић,
п̄редседник Опранка САНУ у Новом Саду

академик Нинослав Стојадиновић,
п̄редседник Опранка САНУ у Нишу

академик Градимир Миловановић,
*секретар Одељења за математичку,
физику и тео-науке*

академик Владимир Стевановић,
*секретар Одељења хемијских
и биолошких наука*

академик Зоран Љ. Петровић
секретар Одељења п̄техничких наука

академик Драган Мицић,
секретар Одељења медицинских наука

академик Злата Бојовић,
секретар Одељења језика и књижевности

академик Коста Чавошки,
секретар Одељења друшп̄вених наука

академик Михаило Војводић,
секретар Одељења историјских наука

академик Милан Лојаница,
секретар Одељења ликовне и музичке уметности

Портретне фотографије су из фототеке Библиотеке САНУ.
Илустрације на корицама и празним страницама књиге
представљају детаље са фасаде Палате САНУ.

САДРЖАЈ

Академик Миро Вуксановић <i>Три књије чланова САНУ</i>	15
Одељење за математику, физику и гео-науке	
Дописни члан Жељко Шљиванчанин <i>Компјутерско моделовање наносструктура на површинама кристала</i>	27
Одељење хемијских и биолошких наука	
Дописни члан Тања Ћирковић Величковић <i>Дојринос еројеоомике наукама о храни, исхрани и живојној средини: размаирање деградација и модификација хране током обраде и дијетције хране и од утицајем запађења живојне средине</i>	51
Одељење техничких наука	
Дописни члан Влада Вељковић <i>Развој и примена вишефазној реактора са вибрационом мешалицом у производњи биодизела</i>	81
Одељење медицинских наука	
Дописни члан Татјана Симић <i>Поремећај редокс хомеостазе у хроничној бубрежној слабости</i>	109

Одељење језика и књижевности

- Дописни члан Љубинко Раденковић
*Источнословенска бојиња Мокош: ишћања
реконструкције* 131
- Дописни члан Јован Делић
Памћење поезије и ујеловљење традиције 145
- Дописни члан Зоран Пауновић
Данило Киш и Џејмс Џојс: случај Уликс 157

Одељење друштвених наука

- Дописни члан Павле Петровић
*Инфлација: ошћуд, како се развија
и како је зауставиши?* 173
- Дописни члан Алпар Лошонц
Да ли су идеје још релевантне? 201

Одељење историјских наука

- Дописни члан Вујадин Иванишевић
*Методолошки иприсћуй у ироучавању новца
средњовековне Србије* 219
- Дописни члан Драган Војводић
*Оружје с небеса. Иконолоија средњовековних
ипредстава инвестииуре владара
војним инстиијама* 235
- Дописни члан Мира Радојевић
*Преиензије Централнои комитиеша
Комунистичке партије Хрваиске
на Срем (1941–1944)* 259

Одељење ликовне и музичке уметности

- Дописни члан Сава Халугин
Токови вајареве маиме 279
- Дописни члан Јелена Јовановић
*Ећномузиколошки и уметнички рад у домену
итрадиционалнои фолклорнои вокалнои наслеђа* 289

Радне биографије предавача

- Желько Шљиванчанин 323

Тања Ћирковић Величковић	327
Влада Вельковић	333
Татјана Симић	337
Љубинко Раденковић	343
Јован Делић	347
Зоран Пауновић	349
Павле Петровић	353
Алпар Лошонц	357
Вујадин Иванишевић	361
Драган Војводић	365
Мира Радојевић	369
Сава Халугин	371
Јелена Јовановић	375



ОДЕЉЕЊЕ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА







Татјана Симић

*Поремећај редокс
хомеостазе у хроничној
бубрежној слабости*



Предавање одржано на 1. скупу Одељења медицинских наука,
27. фебруара 2019. године.

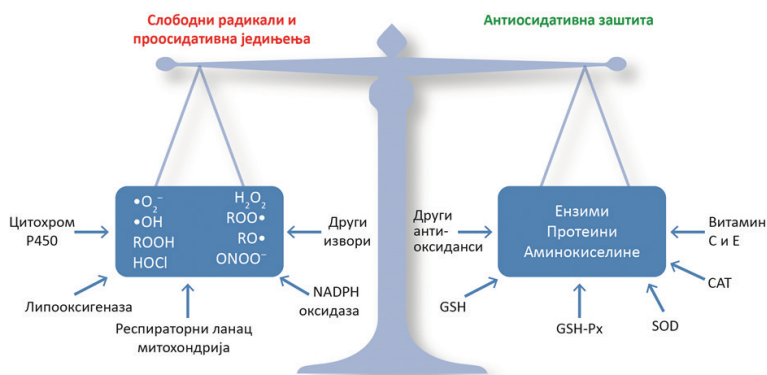
Истраживања у другој половини двадесетог века су показала да у настанку многих малигних и немалигних обољења човека значајну улогу има поремећај равнотеже између нивоа прооксидантних и антиоксидантних једињења. Ово стање је 1985. године дефинисао као оксидативни стрес професор Хелмут Сис са Медицинског универзитета у Диселдорфу, пионир редокс биологије и медицине и члан Леополдине [1]. Међутим, у 21. веку, нова открића о значајним улогама које слободни радикали имају у различитим физиолошким процесима, пре свега у правилном функционисању преноса сигнала у ћелијама, довела су донекле до рedefиниције оксидативног стреса и развоја концепта редокс хомеостазе. Значајан допринос расветљавању механизма настанка оксидативног стреса у хроничној бубрежној слабости дала су истраживања показатеља оксидативног оштећења макромолекула и активности антиоксидантних ензима, чији пионир је Јасмина Мимић-Ока, мој ментор и дугогодишњи професор на Катедри за медицинску и клиничку биохемију Медицинског факултета у Београду. Имала сам срећу да са све три своје најближе сараднице, професорком Аном Савић Радојевић, професорком Маријом Пљеша Ерцеговац и професорком Маријом Матић, поновим диван однос, пун узајамног поверења и креативне снаге, који сам имала са мојим Учитељем. Њихово постојање, магија менторског и тимског рада са младима у лабораторији, као и бројне интеракције са генерацијама студената медицине које сам пратила у њиховим првим истраживачким корацима од давне 2004. године до недавно, дали су сврху мом научном и професионалном животу, баш као и резултати које смо постизале. У тексту приступног предавања ће бити представљен концепт редокс хомеостазе, затим, зашто је терминална бубрежна слабост

стање оксидативног (ди)стреса, како се организам брани од системског оксидативног стреса и у којој мери тај одговор зависи од генетске основе, односно експресије и активности појединих детоксикационих и антиоксидативних ензима. На крају, биће представљени резултати најновијих истраживања који указују на потенцијални прогностички значај биомаркера оксидативног дистреса и варијација у генима за антиоксидатне ензиме код болесника са терминалном слабошћу бубрега.

1. Редокс хомеостаза – златна средина здравог живота

Резултати истраживања у области редокс биологије и медицине дали су значајан допринос развоју биохемије у другој половини двадесетог века. Наиме, иако су слободни радикали, као атоми, молекули или јони који садрже неспарен електрон [2], били одавно познати у хемији, њихов биомедицински значај се постепено разоткривао. Молекул кисеоника је, због специфичног распореда последња два електрона, који појединачно круже у орбиталама, веома реактиван. Са једне стране, оваква структура молекула кисеоника омогућава постепени пренос електрона на респираторном ланцу митохондрија и аеробни живот на нашој планети, а са друге, због погодне постепене унивалентне редукције може да доведе до стварања супероксидног ањона ($O_2^{\cdot-}$), затим водоник-пероксида (H_2O_2), који није класичан радикал, и најопаснијег од свих реактивних кисеоничних једињења, хидроксил радикала (HO), који може имати веома штетне ефекте и довести до краја иреверзибилног оштећења оксидисаних молекула. Поред реактивних кисеоничних једињења, велики биолошки и медицински значај имају и реактивна једињења азота, посебно азот оксид и пероксинитрит. У физиолошким условима, најважније место стварања слободних радикала је респираторни ланац митохондрија. Поред тога, слободни радикали се стварају и у ендоплазматском ретикулуму и пероксизомима. Продукција слободних радикала се повећава у условима појачане активности митохондрија и код сасвим здравих особа, нпр. после оброка богатог угљеним хидратима и мастима, или након појачане физичке активности. Поред тога, изложеност дуванском диму, индустријском

загађењу, зрачењу и појединим лековима, као и метаболизам ксенобиотика повећавају продукцију слободних радикала. У заштити од штетних ефеката слободних радикала су током еволуције развијени различити механизми, ензимски и не-ензимски, ендогени и егзогени. Код здравих особа постоји редокс хомеостаза, фина равнотежа између стварања слободних радикала и антиоксидативне заштите [3] (Слика 1).



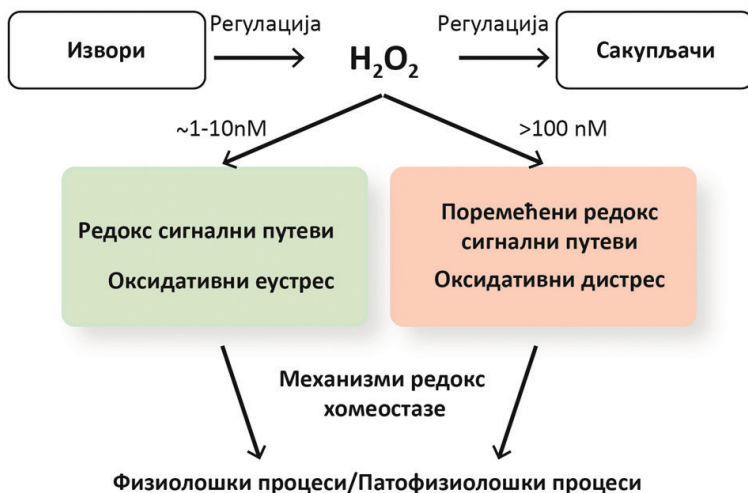
Слика 1. Равнотежа између прооксиданата и антиоксиданата $\text{O}_2^{\cdot-}$, супероксидни анјон; HO^{\cdot} , хидроксил радикал; H_2O_2 , водоник-пероксид; ROO^{\cdot} , пероксил радикал; RO^{\cdot} , алкоксил радикал; ONOO^- , пероксинитрит; ROOH , хидропероксид; GSH , глутатион; GSH-Px , глутатион пероксидаза; SOD , супероксид димутаза; CAT , каталаза.

Нажалост, у многим обољењима долази до оксидативног стреса, када се ова равнотежа ремети, било услед појачане продукције слободних радикала или неадекватне антиоксидативне заштите. Мада оксидативни стрес представља најчешће секундарни догађај у току патогенезе неког обољења, показано је да различити узрочници могу изазвати поремећаје функције различитих органа или ткива коришћењем слободних радикала као неспецифичних медијатора оштећења ћелија.

2. Од оксидативног еустреса до оксидативног дистреса

Иако се дуго веровало да су слободни радикали у биолошким системима релативно опасни молекули, процват

редокс биологије у 21. веку донео је нова сазнања у погледу важних биолошких функција слободних радикала. Наиме, као што је важно да висок ниво прооксидантних молекула не преовлада у ћелијама, исто тако су за регулацију бројних физиолошких процеса потребни слободни радикали у малим концентрацијама. Пренос инсулинског сигнала, деловање фактора раста, отпуштање цитокина, регулација васкуларног тонуса, као и бројни други процеси нису могући без присуства реактивних кисеоничних или азотних једињења. Најзначајнију улогу у продукцији супероксид анјона и водоник-пероксида, који су укључени у, тзв. редокс регулисан пренос сигнала, имају припадници породице NADPH-зависних оксидаза. Због ових нових открића, прву редефиницију оксидативног стреса даје 2006. године Дин Џонс, по којој је оксидативни стрес нарушавање редокс регулације процеса преноса сигнала [4].



Слика 2. Варијације у концентрацији водоник-пероксида и његове улоге у оксидативном еустресу и дистресу (прилагођено према [5]).

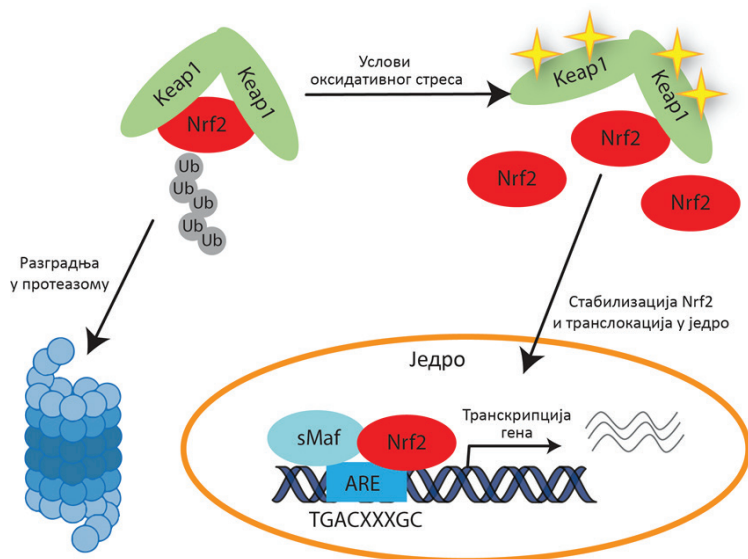
Међутим, у светлу открића физиолошких варијација концентрације водоник-пероксида у процесу преноса сигнала, уведе се појмови као што су оксидативни еустрес и оксидативни дистрес [5,6]. Тако промене концентрације водоник-пероксида у опсегу од 1–10 nM одговарају стању тзв.

оксидативног еустреса, који за последицу има реверзибилну промену конформације протеина, која настаје услед оксидације редокс сензитивних тиол група. Конформационе промене протеина имају за последицу промену њихове активности (нпр. инхибиција фосфатазне активности тирозин фосфатаза у преносу инсулинског сигнала) или омогућавају протеин–протеин интеракције између специфичних протеина и пренос сигнала у ћелији. Оксидативни дистрес настаје када ћелијска концентрација водоник-пероксида превазиђе вредности од 100 nM. У овим условима оксидативне модификације макромолекула, попут оксидације протеинских тиол група, пероксидације липида и оксидације нуклеотида су иреверзибилне. Између ове две крајности, стања оксидативног еустреса и дистреса, делују механизми редокс хомеостазе.

3. Редокс сензитивни Nrf2-Keap1 систем као регулатор редокс хомеостазе

У условима када се повећава изложеност егзогеним изворима слободних радикала или критично расте њихова интрацелуларна продукција, долази до активације механизма антиоксидативне заштите у чему кључну улогу има транскрипциони фактор Nrf2 (енг. Nuclear factor E2-related factor 2) и његов редокс сензитивни везујући партнер Keap1 (енг. Kelch-like ECH-associated protein 1) [7]. У физиолошким условима новосинтетисани Nrf2 молекули се нековалентно везују за протеин Keap1, који их чини подложним за убиквитинацију и разградњу у протеазому. Међутим, у условима повећане концентрације слободних радикала и електрофилног стреса, редокс сензитивни молекули цистеина у Keap1 протеину се оксидују, мења се конформација овог молекула, услед чега се транскрипциони фактор Nrf2 отпушта, премешта у једро, где се везује за одговарајуће регулаторне елементе гена који регулишу експресију ензима и протеина укључених у антиоксидантни одговор.

Заправо, транскрипциони фактор Nrf2 откључава ове гене и повећава експресију протеина и ензима неопходних за одржавање редокс хомеостазе. Регулаторна секвенца



Слика 3. Транскрипциони фактор Nrf2 као редокс регулатор (прилагођено по [7]) Nrf2 – енг. Nuclear factor E2-related factor 2; Keap1 – енг. Kelch-like ECH-associated protein 1; Ub – убиквитин; ARE – енг. antioxidant response element; sMAf – енг. small Maf protein.

гена која се активираше под утицајем Nrf2 означава се као ARE (енг. antioxidant response element). На основу ARE секвенце идентификован је читав низ протеина чија експресија се појачава у условима оксидативног стреса. Тако су као кључне мете транскрипционог фактора Nrf2 идентификовани гени укључени у неколико редокс зависних метаболичких путева и система, укључујући регенерацију и синтезу глутатиона, детоксикацију кеснобиотика, тиоредоксин зависан антиоксидантни систем, регенерацију редукованог облика никотинамид динуклеотид фосфата и метаболизам хема и гвожђа. Централна улога Nrf2 транскрипционог фактора у процесу регулације редокс хомеостазе привукла је велику пажњу истраживача услед могућности да се његовом активацијом или применом инхибитора Кеар протеина индукује антиоксидантни одговор и заштита од оксидативног стреса [8, 9].

4. Хронична бубрежна слабост је стање оксидативног дистреса

Хронична бубрежна слабост се дефинише као оштећење структуре или функције бубрега које траје дуже од три месеца и/или смањење јачине гломерулске филтрације испод $60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$. Водећи узроци хроничне бубрежне слабости су дијабетес и хипертензија, а међу значајним се наводе и гломерулонефритиси и наследне болести бубрега [9,10]. Оболене особе имају повећани ризик за настанак кардиоваскуларних компликација, тумора и хроничних инфекција. Хронична бубрежна слабост може узнатредовати до терминалне бубрежне слабости, завршног и иреверзибилног губитка бубрежне функције израженог падом јачине гломерулске филтрације испод $15 \text{ ml/min/1.73 m}^2$, код које терапију чине дијализа или трансплантација [11].

У хроничној бубрежној слабости, услед постепеног слабења функције бубрега, долази до акумулације крајњих производа метаболизма једињења ендогеног и егзогеног порекла, а у терминалној бубрежној слабости и до изразитог нагомилавања уремијских токсина. Због тога је потпуно логична била претпоставка да у овој патологији постоји оксидативни дистрес. Користећи транслациони приступ, проф. Јасмина Мимић-Ока и проф. Љубица Ђукановић, доајен српске нефрологије, међу првима су показале промене нивоа глутатиона, кључног ендогеног непротеинског антиоксиданса, код болесника са хроничном бубрежном слабошћу [12]. Моји истраживачки почеци су везани за овај јединствен тандем две изванредне научнице и професорке Медицинског факултета у Београду, које су ме прихватиле, са стрпљењем ми преносиле непроцењиво знање и пажљиво утирале пут у академској заједници, све до истраживачке зрелости. Поред увођења у начин научног размишљања, из личног односа са својим ментором, мојом драгом професорком Ока, понећу многе драгоцености, од којих су најважније осећај одговорности и емпатије у односу према младим људима који ће касније уз мене стасавати и балансирање између професионалне и породичне посвећености. Деведесетих година прошлог века, у време које у погледу материјалне инфраструктуре није нимало погодновало истраживачком

раду, захваљујући огромном ентузијазму, међу првима смо мерењем концентрације тиол група албумина, тзв. протеинских жртвених антиоксиданаса и малондиалдехида, производа липидне пероксидације у плазми, показали да у хроничној бубрежној слабости долази до оксидативних модификација протеина и липида и да постоји системски оксидативни стрес [13–16]. Поред тога, код болесника са хроничном бубрежном слабошћу показано је да постоји и смањен антиоксидантни капацитет, пре свега услед недовољне експресије екстрацелуларне глутатион пероксидазе 3, која једним делом води порекло из ћелија проксималних тубула бубрега [15].

Резултати клиничких истраживања оксидативног стреса у хроничној бубрежној слабости добили су своју потврду у одговарајућим анималним моделима, који су били предмет мог магистарског рада. Наиме, у моделу адриамицинске нефропатије, у коме је интравенском инјекцијом адриамицина код Вистар албино пацова после 28 недеља индукована хронична бубрежна слабост, показано је да постоји поремећај редокс хомеостазе на нивоу бубрега, као последица пада активности кључних ензима синтезе и регенерације глутатиона, и активности глутатион пероксидазе која се ствара у бубрегу [16]. Каснији модели дисфункције бубрега, као што је модел редукције бубрежног паренхима за пет шестина, потврдили су ове резултате пада експресије антиоксидантних ензима у бубрежном паренхиму. Штавише, данас је познато да различити етиолошки фактори као што су хипертензија, дијабетес и гломерулонефритис, који доводе до хроничне бубрежне слабости, имају за последицу локални оксидативни дистрес, тако да су слободни радикали са инфламаторним молекулима заједнички медијатори оштећења бубрежног паренхима [17]. Поремећена редокс равнотежа присутна је и у акутној бубрежној слабости, као што је показано у моделу у коме је она индукована натријум малеатом [18]. И у овом моделу показане су значајне промене нивоа глутатиона, као и ензима укључених у његову синтезу и коришћење у бубрежном паренхиму.

На основу свега наведеног, али и каснијих истраживања нивоа водоник-пероксида у плазми и издахнутом ваздуху бубрежних болесника [19], без обзира које дефиниције оксидативног стреса се придржавали, јасно је да болесници са хроничном, а посебно са терминалном бубрежном слабошћу,



Слика 4. Проф. Љубица Ђукановић, проф. Јасмина Мимић-Ока и Татјана Симић у Београду, 2006. године

имају изражен поремећај редокс хомеостазе. Његови узроци су, поред дејства уремијских токсина и смањене активности антиоксидантних ензима, и недовољан унос антиоксидантних витамина; контакт полимофонуклеарних ћелија са хемодијализном мембраном који доводи до активације оксидативног метаболизма; неконтролисано парентерално давање гвожђа; понављане трансфузије; реакције на катетере и артериовенске графтове; хроничне инфекције, као и пратећи имунолошки и метаболички поремећаји [20–22]. Оксидативни дистрес код пацијената са терминалном бубрежном слабошћу је потенцијални медијатор кардиоваскуларних, неуролошких и других компликација код ових болесника – укључен је у патогенезу ендотелне дисфункције, атеросклерозе и инфламације [23–25].

5. Кардиоваскуларне компликације код болесника са терминалном бубрежном слабошћу

Подаци из литературе указују на то да је кардиоваскуларна смртност у популацији дијализираних болесника и до 20

пута већа него у општој популацији [26]. Код болесника са терминалном бубрежном слабошћу заступљена су два различита типа васкуларних промена, који се узајамно преклапају: артериосклероза и атеросклероза [27]. Артериосклероза је обележје ремоделованих артерија, које се карактерише дифузним калцификацијама у комбинацији са дилатацијом и повећаном дебљином медијалног слоја зида аорте и њених главних грана, што доводи до повећане крутости артерија, последичне хипертрофије леве коморе и срчане слабости. У настанку артериосклерозе у хроничној бубрежној слабости важну улогу има поремећај хомеостазе калцијума и фосфата, који заједно са уремијским токсинима доприноси убрзаним калцификацијама медије артерија и активној остеогеној диференцијацији глатких мишићних ћелија [27].

Атеросклероза је примарно поремећај интима артерија средњег промера, која се карактерише формирањем плака, сужењем и оклузијом крвних судова. Карактеристике атерома коронарних артерија код дијализираних болесника су задебљање интима медије и изражено калцификовани плакови. Ове промене за последицу имају исхемију миокарда, фиброзу и срчану слабост [27]. Верује се да механизам атеросклерозе код ових болесника укључује исте догађаје као и у осталој популацији која нема хроничну бубрежну слабост, али је брзина напредовања атеросклерозе, као и степен оксидативних модификација, експресија адхезионих молекула, стварање пенастих ћелија и пролиферација глатко-мишићних ћелија јачег интензитета. У настанку убрзане атеросклерозе код болесника на дијализи значајну улогу имају како традиционални, тако и нетрадиционални фактори ризика, укључујући оксидативни стрес и инфламацију.

Интересантно је да нису сви болесници у терминалној бубрежној слабости у истој мери подложни настанку кардиоваскуларних компликација као што су хронична срчана слабост, инфаркт миокарда, мождани удар или периферна васкуларна болест. Тако ће из још увек недовољно јасних разлога, неки од дијализираних болесника живети на дијализи преко двадесет година, а неки свега неколико година. Као и у осталим областима медицине, и у нефрологији су интензивна истраживања потенцијалних биомаркера укупног преживљавања и кардиоваскуларне прогнозе у хроничној

бубрежној слабости. Као биомаркери убрзане артериосклерозе, најчешће се одређују нивои паратиреоидних хормона, калцијума, фосфора, клото протеина и фибробластног фактора раста-23 у плазми [28]. У светлу значајне улоге коју оксидативни стрес има у настанку убрзане атеросклерозе, као и постојања значајних интериндивидуалних варијација у заштити од слободних радикала, које су последица варијација у генима за антиоксидативне ензиме, веома интересно је било испитати да ли су ове индивидуалне варијације у антиоксидативном и детоксикационом одговору на уремију, повезане са степеном оксидативног дистреса код ових болесника, убрзаном атеросклерозом и настанком кардиоваскуларних компликација.

6. Повезаност полиморфизама гена за антиоксидантне и детоксикационе ензиме са показатељима оксидативног стреса у терминалној бубрежној слабости

Далеко пре открића Nrf2 као кључног регулаторног молекула у одржавању редокс хомеостазе, наша истраживања су показала да се у условима високе концентрације слободних радикала и уремијских токсина, повећава експресија и активност глутатион трансфераза за које данас знамо да су кључне мете овог транскрипционог фактора, у еритроцитима и лимфоцитима пацијената са терминалном бубрежном слабошћу [13, 14]. Штавише, степен експресије еритроцитне глутатион трансферазе је пропорционалан адекватности хемодијализе и Kt/V вредности, и огледало је квалитета дијализе [29]. Глутатион трансферазе (GST, EC 2.5.1.18) представљају мултигенску суперфамилију протеина који поседују бројне каталитичке и некаталитичке функције. Између осталог, припадници цитосолне фамилије глутатион трансфераза имају кључну детоксикациону и антиоксидантну улогу у процесима инактивације реактивних електрофилних једињења. Полиморфизми гена за глутатион трансферазе су присутни код готово свих припадника цитосолних класа глутатион трансфераза. Поред тога, велики функционални значај имају и хомозиготне делеције гена за глутатион трансферазу M1 и

T1, које су веома заступљене у популацији белаца (око 50% у случају гена GSTM1, односно око 20% у гену за GSTT1). Ове варијације имају за последицу недостатак или измењену функцију варијантних протеина, услед чега је укупан детоксикациони и антиоксидантни капацитет ћелија измењен.

Полиморфизми	Показатељи					
	GSTA1 rs3957357	GSTM1 хомозиготна делеција	GSTP1 rs1695	GSTT1 хомозиготна делеција	GSTO1 rs4925	GSTO2 rs156697
Тиол групе албумина	n. s.	p<0.001	p<0.05	p<0.05	n. s.	n. s.
Карбонилне групе	p<0.05	p<0.05	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
Производи узрапредовале оксидације протеина	n. s.	p<0.05	n. s.	p<0.05	n. s.	n. s.
Нитрогирозин	n. s.	n. s.	p<0.05	n. s.	n. s.	n. s.
Малондиалдехид	n. s.	n. s.	p<0.05	n. s.	n. s.	n. s.
Конјугати малондиалдехида и протеина	n. s.	p<0.001	p<0.05	p=0.001	n. s.	n. s.
Укупни оксидативни статус	n. s.	p<0.05	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
Прооксидативно антиоксидативни баланс	n. s.	p<0.05	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
Интерцелуларни ћелијски адхезиони молекули	n. s.	p<0.05	n. s.	n. s.	n. s.	n. s.
Васкуларни ћелијски адхезиони молекули	n. s.	p<0.001	p<0.05	n. s.	n. d.	n. d.

Табела 1. Повезаност полиморфизама гена за глутатион трансферазе A1, M1, P1, T1, O1 и O2, са показатељима оксидативног стреса и ендотелне дисфункције (n. s. – нема статистички значајне повезаности; n. d. – није одређивано).

Полиморфна експресија глутатион трансфераза може да утиче на подложност за настанак различитих малигних и немалигних обољења, што је предмет наших вишегодишњих истраживања у оквиру националног пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије. У покушају да установимо да ли су полиморфизми гена за глутатион трансферазе повезани са оксидативним дистресом,

ендотелном дисфункцијом и преживљавањем у хроничној бубрежној слабости, урађено је велико истраживање које је обухватило преко две стотине болесника који су се лечили понављаним хемодијализама у два дијализна центра, код којих је одређено осам показатеља оксидативног стреса, фракције липопротеина, показатељи ендотелне функције и праћено укупно и кардиоваскуларно преживљавање након три, пет и осам година.

Одређивање показатеља оксидативног стреса код дијализираних болесника је обухватило мерење нивоа биомаркера оксидативног оштећења протеина, липида и укупне прооксидативно-антиоксидативне равнотеже. Анализа повезаности ових параметара са варијантним облицима гена за глутатион трансферазе GSTA1, GSTP1, GSTO1 и GSTO2, као и делеционих полиморфизама гена за GSTM1 и GSTT1, показала је да најизраженији независан ефекат на ниво показатеља оксидативног стреса и показатеља ендотелне дисфункције има делеција гена за GSTM1 и варијантни облик гена за GSTP1 [30, 31].

Поред тога, показано је да се неповољан ефекат ових полиморфизама на степен оксидативног стреса код болесника на дијализи појачава када је код одређене особе присутно више варијантних облика гена за глутатион трансферазе, који за последицу имају одсуство протеина или смањену антиоксидантну и детоксикациону функцију. Ови резултати су недвосмислено показали да се на основу генотипа пацијенти на хемодијализи могу стратификовати у смислу подложности за настанак израженијег оксидативног стреса. Резултати недавних, још увек необјављених, истраживања показују да се поред глутатион трансфераза M1 и P1, и полиморфизам митохондријалне супероксид дизмутазе 2 (SOD2) може сврстати међу гене чији полиморфизми за последицу имају израженији оксидативни стрес код дијализираних болесника. Веза генотипа и фенотипа потврђена је и одређивањем повезаности појединих облика ових гена са проатерогеним липопротеинским честицама [32]. Интересантно је да, иако није било функционалне повезаности између варијантних облика гена за глутатион трансферазе класе омега са показатељима оксидативног стреса, ови резултати имају одређени значај јер потврђују сасвим другачије биохемијске улоге

ових ензима, као што је то недавно показано у карциному мокраћне бешике, у процесима деглутатионилације [33].

7. Повезаност полиморфизама гена за антиоксидантне и детоксикационе ензиме и показатеља оксидативног дистреса са преживљавањем у терминалној бубрежној слабости

Дугогодишње праћење преживљавања кохорте српских болесника на хемодијализи показало је да варијације у генима за глутатион трансферазе, али и ниво показатеља оксидативног стреса, утичу на прогнозу. Показана је статистички значајна повезаност делеције гена за GSTM1 са лошијим укупним и кардиоваскуларним преживљавањем. Поред овог генског прогностичког биомаркера, ниво експресије васкуларног адхезионог молекула 1 (енг. vascular cell adhesion molecule 1, VCAM-1) и укупни прооксидативни-антиоксидативни баланс су утицали на укупно, а ниво VCAM-1 и ниво узнапредовалих производа оксидације протеина су утицали на кардиоваскуларно преживљавање [34]. Анализа удруженог ефекта генских и биохемијских маркера оксидативног стреса на укупно и кардиоваскуларно преживљавање показала је да се преживљавање побољшава са смањењем броја биомаркера оксидативног дистреса чије су вредности патолошки измењене.

8. Закључци и перспективе

Иако резултати приказани у приступном предавању у будућности захтевају валидацију на неколико независних кохорти дијализираних болесника, они су потпуно у складу са патофизиолошком улогом коју поремећај редокс хомеостазе има у настанку различитих компликација код болесника на хемодијализи, пре свега кардиоваскуларних догађаја. Поред тога, они отварају још неке занимљиве истраживачке нише, у смислу испитивања функционалног значаја који нисходна регулација (утишавање) гена за GSTM1 има на протеом ендотелних ћелија. Идентификација гена који су удружени са слабијим преживљавањем болесника на хемодијализи са

друге стране, у перспективи омогућава примену принципа прецизне медицине, где би се применом панела који укључују генотип, биомаркере оксидативног дистреса и ендотелне дисфункције пажљиво селектовали пацијенти који су кандидати за одговарајућу медикаментозну и антиоксидантну терапију.

Литература

- [1] Sies, H. "Oxidative stress: introductory remarks". In: H. Sies (Ed.), *Oxidative stress*. London: Academic Press, 1985. Pp. 1–8.
- [2] Halliwell, B., J. M. C. Gutteridge. *Free radicals in biology and medicine*. 5th ed. Oxford, United Kingdom: Oxford University Press; 2015. 905 p.
- [3] Ursini, F., M. Maiorino, H. J. Forman. "Redox homeostasis: The Golden Mean of healthy living". *Redox Biol.* 8 (2016): 205–215.
- [4] Jones, D. P. "Redefining oxidative stress". *Antioxid Redox Signal.* 8 (9–10) (2006): 1865–1879.
- [5] Sies, H. "Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress". *Redox Biol.* 11 (2017): 613–619.
- [6] Niki, E. "Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress?". *Arch. Biochem. Biophys.* 595 (2016): 19–24.
- [7] Tonelli, C., I. I. C. Chio, D. A. Tuveson. "Transcriptional Regulation by Nrf2". *Antioxid. Redox Signal.* 29 (17) (2018): 1727–1745.
- [8] Lu, M-C., J-A. Ji, Z-Y. Jiang, Q-D. You. "The Keap1-Nrf2-ARE Pathway As a Potential Preventive and Therapeutic Target: An Update". *Med. Res. Rev.* 36 (5) (2016): 924–963.
- [9] Nezu, M., N. Suzuki, M. Yamamoto. "Targeting the KEAP1-NRF2 System to Prevent Kidney Disease Progression". *Am. J. Nephrol.* 45 (6) (2017): 473–483.
- [10] Levey, A. S., P. E. de Jong, J. Coresh, M. El Nahas, B. C. Astor, K. Matsushita et al. "The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report". *Kidney Int.* 80 (1) (2011): 17–28.
- [11] Kramer, A., M. Pippias, M. Noordzij, V. S. Stel, N. Afentakis, P. M. Ambühl et al. "The European Renal Association – European Dialysis and Transplant Association (ERA–EDTA) Registry Annual Report 2015: a summary". *Clin Kidney J.* 11 (1) (2018): 108–122.
- [12] Mimić-Oka, J., L. Djukanović, B. Marković. "Erythrocyte and plasma glutathione levels in patients with chronic renal insufficiency". *Biochem. Med. Metab. Biol.* 39 (1) (1988): 48–54.

- [13] Mimic-Oka, J., T. Simic, V. Ekmescic, P. Dragicevic. "Erythrocyte glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in different stages of chronic renal failure". *Clin. Nephrol.* 44 (1) (1995): 44–48.
- [14] Mimic-Oka, J., T. Simic, L. Djukanovic, J. Stefanovski, Z. Ramic. "Glutathione and its associated enzymes in peripheral blood cells in different stages of chronic renal insufficiency". *Amino Acids.* 2 (3) (1992): 215–224.
- [15] Mimić-Oka, J., T. Simić, L. Djukanović, Z. Reljić, Z. Davicević. "Alteration in plasma antioxidant capacity in various degrees of chronic renal failure". *Clin. Nephrol.* 51 (4) (1999): 233–241.
- [16] Simić, T., J. Mimić-Oka, M. Sindjić. "Glutathione and enzymes associated with glutathione metabolism in adriamycin nephropathy". *Srp. Arh. Celok. Lek.* 124 (Suppl 1) (1996): 45–47.
- [17] Aminzadeh, M. A., S. B. Nicholas, K. C. Norris, N. D. Vaziri. "Role of impaired Nrf2 activation in the pathogenesis of oxidative stress and inflammation in chronic tubulo-interstitial nephropathy". *Nephrol. Dial. Transplant.* 28(8) (2013): 2038–2045.
- [18] Mimić-Oka, J., T. Simić. "Time course of renal glutathione levels in experimental Fanconi syndrome: an enzyme-based approach". *Ren. Fail.* 19 (3) (1997): 373–381.
- [19] Rysz, J., M. Kasielski, J. Apanasiewicz, M. Król, A. Woźnicki, M. Luciak, et al. "Increased hydrogen peroxide in the exhaled breath of uraemic patients unaffected by haemodialysis". *Nephrol. Dial. Transplant.* 19 (1) (2004): 158–163.
- [20] Kosch, M., A. Levers, M. Fobker, M. Barenbrock, R. M. Schaefer, K.-H. Rahn et al. "Dialysis filter type determines the acute effect of haemodialysis on endothelial function and oxidative stress". *Nephrol. Dial. Transplant.* 18 (7) (2003): 1370–1375.
- [21] Oka, Y., M. Miyazaki, S. Takatsu, K.-I. Kunitomo, Y. Kokumai, H. Matsuda et al. "Lowering of oxidative stress in hemodialysis patients by dialysate cleaning: in relation to arteriosclerosis". *Ther. Apher. Dial.* 8 (4) (2004): 313–319.
- [22] Vaziri, N. D. "Oxidative stress in uremia: nature, mechanisms, and potential consequences". *Semin. Nephrol.* 24 (5) (2004): 469–473.
- [23] Deng, G., N. D. Vaziri, B. Jabbari, Z. Ni, X. X. Yan. "Increased tyrosine nitration of the brain in chronic renal insufficiency: reversal by antioxidant therapy and angiotensin-converting enzyme inhibition". *J. Am. Soc. Nephrol.* 12 (9) (2001): 1892–1899.
- [24] Himmelfarb, J., P. Stenvinkel, T. A. Ikizler, R. M. Hakim. "The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia". *Kidney Int.* 62 (5) (2002): 1524–1538.
- [25] Vaziri, N. D., F. Oveisi, Y. Ding. "Role of increased oxygen free radical activity in the pathogenesis of uremic hypertension". *Kidney Int.* 53 (6) (1998): 1748–1754.

- [26] De Jager D. J., D. C. Grootendorst, K. J. Jager, P. C. van Dijk, L. M. J. Tomas, D. Ansell et al. "Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis". *JAMA* 302 (16) (2009): 1782–1789.
- [27] S. Chirakarnjanakorn, S. D. Navaneethan, G. S. Francis, W. H. W. Tang. "Cardiovascular impact in patients undergoing maintenance hemodialysis: Clinical management considerations". *Int. J. Cardiol.* 232 (2017): 12–23.
- [28] Yamada, S., C. M. Giachelli. "Vascular calcification in CKD-MBD: Roles for phosphate, FGF23, and Klotho". *Bone* 100 (2017): 87–93.
- [29] Noce, A., M. Ferrannini, R. Fabrini, A. Bocedi, M. Dessi, F. Galli et al. "Erythrocyte glutathione transferase: a new biomarker for hemodialysis adequacy, overcoming the Kt/V(urea) dogma?". *Cell Death Dis.* 3 (2012): e377.
- [30] Cimbajevic, S., S. Suvakov, M. Matic, M. Pljesa-Ercegovac, T. Pekmezovic, T. Radic et al. "Association of GSTO1 and GSTO2 Polymorphism with Risk of End-Stage Renal Disease Development and Patient Survival". *Journal of Medical Biochemistry* [Internet]. 35 (3) (2016). Dostupno i na: <http://www.degruyter.com/view/j/jomb.2016.35.issue-3/jomb-2016-0009/jomb-2016-0009.xml>
- [31] Suvakov, S., T. Damjanovic, A. Stefanovic, T. Pekmezovic, A. Savic-Radojevic, M. Pljesa-Ercegovac et al. "Glutathione S-transferase A1, M1, P1 and T1 null or low-activity genotypes are associated with enhanced oxidative damage among haemodialysis patients". *Nephrol. Dial. Transplant.* 28 (1) (2013): 202–212.
- [32] Vekic, J., A. Zeljkovic, Z. Jelic-Ivanovic, T. Damjanovic, S. Suvakov, M. Matic et al. "Association of glutathione-S-transferase gene polymorphism and lipoprotein subclasses in hemodialysis patients". *Clin. Biochem.* 47 (6) (2014): 398–403.
- [33] Djukic, T., T. Simic, M. Pljesa-Ercegovac, M. Matic, S. Suvakov, V. Coric et al. "Upregulated glutathione transferase omega-1 correlates with progression of urinary bladder carcinoma". *Redox Report.* 22 (6) (2017): 486–492.
- [34] Suvakov, S., T. Damjanovic, T. Pekmezovic, J. Jakovljevic, A. Savic-Radojevic, M. Pljesa-Ercegovac et al. "Associations of GSTM1*0 and GSTA1*A genotypes with the risk of cardiovascular death among hemodialyses patients". *BMC Nephrol.* 15 (2014): 12.