

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



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



Beograd • Belgrade • 2022.  
IMGGI • IMGGE

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

## **Predgovor**

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

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

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

**„I šta ćemo sad?“**

**Sonja Pavlović**

## Iz recenzija Tematskog zbornika *Trendovi u molekularnoj biologiji*

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

**Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik**

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

## Neuroprotektivni potencijal progesterona

Ivana Guševac Stojanović, Dunja Drakulić

Laboratorija za Molekularnu biologiju i endokrinologiju,  
Institut za nuklearne nauke „Vinča“ - Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju,  
Univerzitet u Beogradu, Beograd, Republika Srbija  
Kontakt: igusevac@vin.bg.ac.rs

### Apstrakt

Poremećena moždana cirkulacija, koja je karakteristična za starenje i mnoga cerebrovaskularna i/ili neurodegenerativna oboljenja, povezuje se sa prooksidativnim i proapoptotskim promenama mnogobrojnih biomolekula, uključujući lipide, proteine i DNK, i narušavanjem strukture i funkcije ćelija prečeeone moždane kore (PFC) i hipokampusu (HIPP). Do sada je testiran efekat brojnih jedinjenja da bi se ublažile posledice narušenog protoka krvi kroz moždano tkivo, ali adekvatna terapija još uvek nije dostupna. Ipak, kao jedan od mogućih terapeutika, izdvaja se steroidni hormon, progesteron (pregn-4-en-3,20-dion, P4), za kojeg je pokazano da ispoljava zaštitne efekte u mnogim životinjskim eksperimentalnim modelima kojima se oponašaju pojedini aspekti poremećaja strukture i funkcije moždanih ćelija primećeni kod starijih ljudi i obolelih od cerebrovaskularnih i/ili neurodegenerativnih bolesti. Stoga, fokus ovog rada je pružanje mogućnosti boljeg razumevanja molekulskih mehanizama delovanja P4 u mozgu u fiziološkom stanju, kao i terapijskog potencijala koji iskazuje u animalnim modelima cerebrovaskularnih i neurodegenerativnih bolesti, sa posebnim osvrtom na trajnu moždanu hipoperfuziju (MH) gde pokazuje regionalno-specifično dejstvo. Iako se P4, za sada, u humanoju populaciji pokazao kao neadekvatan terapeutik u lečenju patološkog stanja povezanog sa poremećenom moždanom cirkulacijom, dodatne kliničke studije bi obezbedile saznanja o efektu ovog potentnog neurosteroida kod obolelih od drugih cerebrovaskularnih i/ili neurodegenerativnih bolesti, dok bi u slučaju ohrabrujućih rezultata, P4 terapija mogla znatno olakšati kvalitet života obolelih.

**Ključne reči:** progesteron, cerebrovaskularne i neurodegenerativne bolesti, moždana hipoperfuzija, protektivna regionalno-specifičan odgovor, pacov

## Neuroprotective progesterone potential

Ivana Guševac Stojanović, Dunja Drakulić

Department of Molecular Biology and Endocrinology,  
„VINČA“ Institute of Nuclear Sciences - National Institute of the Republic of Serbia,  
University of Belgrade, Belgrade, Republic of Serbia  
Correspondence: igusevac@vin.bg.ac.rs

### Abstract

Disturbed cerebral circulation, characteristic for aging and many cerebrovascular and/or neurodegenerative diseases, is associated with prooxidative and proapoptotic changes of various biomolecules, including lipids, proteins and DNA, and with compromised cell structure and function in prefrontal cortex (PFC) and hippocampus (HIPP). Numerous compounds, until today, have been tested to alleviate the outcomes of impaired blood flow through brain tissue, but adequate therapy is not yet available. However, one of the possible therapeutics is singled out, the steroid hormone, progesterone (pregn-4-en-3,20-dione, P4), which has been shown to exert protective effects in many animal experimental models that mimic certain aspects of brain structural and functional changes observed in the elderly and those suffering from cerebrovascular and/or neurodegenerative diseases. Therefore, this paper is focused on providing a better understanding of physiological P4-mediated brain molecular mechanisms, as well as its therapeutic potential in animal models of cerebrovascular and neurodegenerative diseases with the emphasis on permanent cerebral hypoperfusion (CH) where the regional-specific response is observed. Although P4 is shown as inadequate for treating a pathological condition associated with disturbed cerebral circulation, additional clinical studies would provide insights into the potential therapeutic capacity of this potent neurosteroid in other cerebrovascular and/or neurodegenerative diseases and conditions. In the case of encouraging results, P4 therapy could significantly improve the quality of patients' life.

**Keywords:** progesterone, cerebrovascular and neurodegenerative diseases, cerebral hypoperfusion, protective regional-specific response, rat



Proteklih decenija, pored naglog porasta broja stanovnika i postepenog povećanja njihovog prosečnog životnog veka, dramatično se povećao i broj obolelih od bolesti koje su povezane sa starenjem, poput neurodegenerativnih, cerebrovaskularnih i kardiovaskularnih bolesti. Bolesti centralnog nervnog sistema (CNS) drugi su vodeći uzrok smrti u svetu, ali i jedan od glavnih uzroka invaliditeta. Ovu veliku skupinu bolesti sa različitim simptomima odlikuje progresivna smrt neurona u različitim regionima CNS, uključujući prečeonu moždanu koru (lat. *cortex praefrontalis*, PFC), limbičku strukturu- hipokampus (lat. *hippocampus*, HIPP) i druge; koja je praćena neurološkom disfunkcijom i odgovorna za gubitak kognitivnih i/ili motornih funkcija. Osim neurona, bolesti CNS karakterišu i strukturne i funkcionalne promene glijalnih ćelija, ali i onih ćelija koje izgrađuju neurovaskularnu jedinicu, kao što su endotelne ćelije [1]. Upravo, najčešće u humanoj populaciji su one bolesti kod kojih je neurodegeneracija jedna od osnovnih karakteristika, poput Alchajmerove bolesti (AB), Parkinsonove bolesti (PB) i amiotrofične lateralne skleroze (ALS) [2]. Osim njih, i druge bolesti u čijoj su osnovi primarno demijelinizacija, ishemija i/ili trauma koje dovede do gubitka neurona mogu biti neurodegenerativne. Kao sekundarne neurodegenerativne bolesti navode se multipla skleroza (MS), moždani udar i traumatske povrede mozga (TPM) [1].

Bolesti CNS, između ostalog, mogu nastati usled smanjenja protoka krvi kroz mozak (moždane hipoperfuzije, MH) koja uzrokuje ishemiju, odnosno, nedovoljnu snabdevenost moždanog tkiva kiseonikom i hranljivim materijama. Ova patološka stanja javljaju se zbog nemogućnosti srca da ispumpa dovoljno krvi u mozak usled začepljenja (eng. *occlusion*) i patološkog suženja (lat. *stenosis*) krvnih sudova, nepravilnog rada srca, trajnog niskog pritiska kao posledice srčanog udara ili urođenih srčanih mana, hirurških intervencija i velikog gubitka krvi, upotrebe lekova i narkotika, kao i zbog različitih oboljenja, i drugog [3].

Iako su do danas predloženi brojni mehanizmi njihovog nastanka i progresije, adekvatna terapija kojom bi se postigao potpuni oporavak od ovih tipova bolesti još uvek ne postoji, ali postoje brojne terapije kojima se samo usporavaju degenerativni procesi. Stoga, ove bolesti predstavljaju veliki socioekonomski teret za države, ne samo zbog predupređenja njihovog nastanka i/ili progresije, pokušaja poboljšanja kvaliteta života samih obolelih, opterećenja članova njihovih porodica, već i uticaja broja pacijenata na ekonomiju i na već preopterećeni zdravstveni sistem [4].

## **Cerebrovaskularni, neurodegerativni poremećaji, oksidativni stres i apoptoza**

Mozak je jedan od najsloženijih organa u telu, sa visokim metaboličkim zahtevima i sposobnošću integracije i regulacije brojnih signala radi održavanja homeostaze tela. Iako je za njegovo normalno funkcionisanje potrebna velika količina energije, mozak ima smanjenu sposobnost njenog skladištenja, mada se, putem krvi, zadovoljavaju visoke energetske potrebe konstantnim snabdevanjem moždanog tkiva kiseonikom i supstratima, odnosno glukozom [5]. Upravo, to se omogućava fino regulisanom neurovaskularnom spregom, odnosno međusobnom komunikacijom neurona, glijalnih ćelija i krvnih sudova koji kontrolišu protok krvi kroz moždano tkivo [6], transport neophodnih molekula, uklanjanje ksenobiotičkih ili neurotoksičnih komponenti, i drugo [1,4,7]. Literaturni podaci ukazuju da u mnogim patofiziološkim, ali i u fiziološkim stanjima, uključujući moždani udar, AB, VaD (vaskularna demencija), ALS, i TPM, kao i starenje, pre pojave kliničkih simptoma ili neurodegenerativnih znakova ovih stanja, prethodi smanjen i/ili potpuno prekinut protok krvi kroz moždano tkivo, i narušavanje fine mikrovaskulature mozga [1,4].

**Moždani udar** je neurodegenerativno oboljenje koje nastaje prekidom dotoka krvi u pojedine regione mozga. Uznemirujući su podaci epidemioloških studija koje su sprovedene u poslednjih nekoliko godina koji ukazuju na sve veći broj moždanih udara kod mladih [8] usled loših životnih navika, stresa, i drugo. Do danas

je opisano nekoliko podtipova moždanog udara, poput ishemijskog moždanog udara koji se javlja u oko 80-85% svih slučajeva i nastaje usled začepljenja krvnih sudova određenog dela mozga usled troboze, embolije, sistemske hipoperfuzije, i drugo; hemoragijskog moždanog udara ili intrakranijalne hemoragije (krvarenja) koji se javlja u 15% slučajeva i podrazumeva nakupljanje krvi unutar lobanje; dok je 5% slučajeva nepoznate etiologije [9].

**Fokalna moždana ishemija** nastaje usled okluzije cerebralne arterije čime se smanjuje protok krvi kroz pojedine regione mozga, a ćelijski odgovor se razlikuje između: *ishemijskog jezgra*, regiona u kome se javlja teška ishemija, u kom su ćelije izložene nedovoljnoj količini kiseonika, ATP i glukoze, usled čega se nepovratno oštećuju i umiru nekrozom; i *penumbre* (senke), regiona u kom su ćelije metabolički aktivne i koje se mogu oporaviti ako se ponovo uspostavi cirkulacija, a u kom ćelije pretežno umiru apoptozom [3]. Literaturni podaci ukazuju da su angiogeneza i remodeliranje tkiva nakon moždanog udara zastupljeni u regionima penumbre, što ove regione stavlja u centar pažnje za terapijsku primenu [10]. S druge strane, **globalnu moždanu ishemiju** odlikuje smanjeni protok krvi kroz ceo mozak ili određeni region mozga (nepotpuna moždana ishemija) ili potpuni prekid (potpuna moždana ishemija). U ovom tipu povrede, u zavisnosti od dužine trajanja ishemijske epizode, razlikuju se: *privremena* u kojoj je delimično ili potpuno smanjenje moždane cirkulacije vremenski ograničeno, što može nastati usled srčanog zastoja, gušenja i šoka, i uzrokovati znatne neurološke poremećaje, čak i smrt; i *trajna* koju odlikuje dugotrajno umereno smanjenje protoka krvi kroz moždano tkivo usled arterio-venoznih oštećenja, začepljenja ili sužavanja karotidnih arterija. Treba istaći da se nastanak i progresija ovog tipa povrede mozga, kao i efekti potencijalnih terapeutika intenzivno proučavaju na animalnim modelima, uključujući podvezivanje jednog krvnog suda (eng. *one vessel occlusion*, 1VO), dva (2VO), tri (3VO) i 4 (4VO) [3].

**Alchajmerova bolest** (AB), najčešći vid demencije, se manifestuje postepenim opadanjem kognitivnih funkcija usled karakterističnog taloženja vanćelijskih proteinskih agregata amiloida- $\beta$  ( $A\beta$ ), formiranja senilnih plakova i unutarćelijskih neurofibrilarnih klubadi sa fosforilisanim Tau proteinom u parenhimu mozga. Najčešći faktori rizika za pojavu i progresiju AB su starost [11], genetska predispozicija, kao što je nasleđivanje *APOE4* gena [12], dijabetes melitus, i drugo [13–16]. Međutim, sve su brojniji dokazi da se u osnovi AB nalaze i poremećaji i/ili disfunkcija mikrovaskulature [17,18] usled taloženja  $A\beta$  koji mogu biti uzrok smanjenja prokrvljenosti moždanog tkiva, promocije ishemijskih oštećenja, koja su praćena vaskularnom i neuronskom degeneracijom i kognitivnim opadanjem [19]. Osim toga, uočeno je da hronična MH i akumulacija  $A\beta$  mogu podstaći angiogenezu oštećenih ćelija i doprineti pojavi dodatnih disfunkcionalnih mikrosudova [20].

**Vaskularna demencija** (VaD) ili bolest malih sudova je drugi najčešći tip demencija nakon AB. Ova neurodegenerativna, cerebrovaskularna bolest nastaje zbog opadanja protoka krvi kroz pojedine regione mozga, smanjenog prenosa kiseonika ili hranljivih materija usled oštećenja mikrovaskulature mozga koja uzrokuju povredu moždanog tkiva, kognitivna oštećenja i demenciju [21], s tim da stepen disfunkcije zavisi od mesta, broja i veličine povrede mozga [4].

**Amiotrofičnu lateralnu sklerozu** (ALS) odlikuje progresivna degeneracija motornih neurona u mozgu i kičmenoj moždini, koji izazivaju atrofiju mišića, paralizu i smrt. Tačan uzrok ALS je i dalje nepoznat, iako u većini slučajeva nastaje sporadično, samo oko 15% slučajeva ima genetsku osnovu, uključujući promene na više od 20 gena, poput mutacija gena za superoksid dismutazu (SOD), TAR DNK-vezujući protein 43 (TARDBP), i druge [22]. Osim toga, kao mogući uzrok nastanka i progresije ALS navodi se i narušavanje funkcije i strukture neurovaskularnih jedinica [23] odgovornih za vaskularnu hipoperfuziju/disregulaciju koja se javlja pre degeneracije motornih neurona ili atrofije različitih moždanih struktura [4].

Moždane lezije koje nastaju direktnim ili indirektnim stimulusima mehaničke prirode, a koje izazivaju poremećaje normalne strukture i funkcije mozga su karakteristične za **traumatsku povredu mozga** (TPM) [24]. Brojni su dokazi kojima se TPM povezuje sa promenama cerebrovaskularne funkcije, smanjenjem protoka krvi kroz mozak, remećenjem strukture i funkcije neurovaskularne jedinice, vaskularnom malformacijom, remećenjem autoregulacije, usled subarahnoidnog krvarenja, vazospazma, edema, poremećaja krvno-moždane barijere (KMB) i neurodegeneracijom [24]. Za ovaj tip moždane povrede karakterističan je primarni, akutni događaj koji je često praćen kaskadama sekundarnih povreda koji traju i po nekoliko meseci ili čak godina, i uključuju glutamatergičku ekscitotoksičnost,  $Ca^{2+}$  preopterećenje i vaskularnu disfunkciju [25–27].

**Starenje** je jedan od vodećih faktora rizika za pojavu i progresiju bolesti CNS [28], s obzirom na to da je direktno ili indirektno povezano sa narušavanjem strukture i funkcije KMB [29], smanjenjem protoka krvi kroz moždane strukture [30,31], ali i nekoliko tipova promena krvnih sudova mozga, kao što su smanjena elastičnost, povećano cerebrovaskularno remodelovanje i kalcifikacija i krutost cerebrovaskularnog zida [32,33]. Na molekularnom nivou starost utiče na angiogenezu i endotelnu disfunkciju [17,34,35], remeteći različite signalne puteve, inicirajući i pospešujući neuroupalne procese, oksidativni stres (OS), ćelijsku smrt tipa apoptoze, i drugo [32]. Trenutno je jedno od najpouzdanijih i najprihvatljivijih objašnjenja za mehanističku osnovu starenja, ali i pojavu i progresiju neurodegenerativnih bolesti „slobodno-radikalna teorija starenja“ koja postulira da je ono, i bolesti povezane sa njim, posledica oštećenja ćelijskih molekula izazvanih slobodnim radikalima i nemogućnošću uravnoteženja ovih promena unutrašnjom antioksidativnom (AO) zaštitom [36].

Jedan od glavnih pokazatelja nastanka i progresije različitih patoloških procesa, OS, nastaje usled prekomerne proizvodnje i/ili neadekvatnog uklanjanja visoko reaktivnih jedinjenja, slobodnih radikala, koji promovisu strukturne i funkcionalne promene biomolekula, poput lipida, proteina i DNK. Najčešće promene su peroksidacija lipida (LPO), fragmentacija proteina, genotoksičnost, depolarizacija mitohondrija i apoptoza koja posledično izaziva ozbiljna oštećenja tkiva i organa, uključujući i mozak [37–39]. Treba istaći da slobodni radikali nisu odlika samo patoloških stanja, već da neprestano nastaju u svim ćelijama u reakcijama oksidativne fosforilacije u mitohondrijama [40,41] kao rezultat normalnog ćelijskog metabolizma i da u niskim koncentracijama učestvuju u fiziološkim procesima. Međutim, u visokim koncentracijama su štetni i izazivaju promene na ćelijskim komponentama. Jedan od najčešće proučavanih slobodnih radikala, pored superoksidnog anjona ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroksil radikala ( $\cdot OH$ ) i vodonik peroksida ( $H_2O_2$ ), je i **azot oksid (NO)**, gas rastvorljiv u vodi, bez mirisa, sa prosečnim polu-životom 3- 5 sek, koji se brzo oksiduje u nitrite i nitrate [42]. NO ima dualnu prirodu, može delovati kao signalni molekul i imati važnu ulogu u regulaciji protoka krvi, sprečavati lepljenje trombocita, delovati kao neurotransmiter i doprinositi primarnoj imunoj zaštiti [43], ali i usled direktnog stupanja u interakciju sa različitim grupama na proteinima formirati peroksinitrit ( $ONOO\cdot$ ), jak oksidant i medijator povrede tkiva, koji može imati toksičan efekat i izazvati apoptozu [44–47]. Kod sisara, NO nastaje radom tri izoforme enzima NO sintaze (NOS):

- nervne (nNOS) uključene u modulisanje fizioloških funkcija, kao što su učenje, pamćenje, neurogeneza, čija je prekomerna aktivnost povezana sa smrću neurona preko receptora osetljivih na N-metil-D-aspartat;
- inducibilne (iNOS) čija sinteza može biti pokrenuta bakterijskim lipopolisaharidom, citokinima i drugim agensima;
- endotelne (eNOS) koja učestvuje u očuvanju proširenosti krvnih sudova, kontroli krvnog pritiska i ima antisklerotične efekte.

ćelije su razvile nekoliko odbrambenih mehanizama odgovornih za regulaciju nivoa ekspresije gena i aktivnosti citoprotektivnih enzima u cilju uklanjanja slobodnih radikala i smanjenja njihovih štetni efekata [48,49].

Komponente AO zaštite su jedinjenja/molekuli kojima se značajno smanjuje, onemogućava i neutrališe oksidacija supstrata odnosno biomolekula, a mogu učestvovati i u popravljanju oštećenja nastalih delovanjem slobodnih radikala. Prema prirodi antioksidanti se mogu svrstati u: enzimske (primarna linija odbrane) odgovorne za razlaganje i uklanjanje slobodnih radikala, poput: SOD, katalaze (CAT), glutation peroksidaze (GPx), glutation-reduktaze (GR) i glutation S-transferaze (GST) [50]; i ne-enzimske (sekundarna linija odbrane), kao što su vitamini A, C i E, glutation (GSH), koenzim Q, i drugi [51].

Literaturni podaci ukazuju da pomeranje fino regulisane ravnoteže između pro- i antioksidanata u pravcu prooksidanata, i pojava i progresija oksidativnog/nitrozativnog stresa (OS/NS) [52], praćeni pokretanjem apoptotske signalne kaskade, doprinose razvoju mnogobrojnih patoloških stanja [53], uključujući i prethodno navedene bolesti CNS. Apoptoza ili „programirana ćelijska smrt“ je energetski zavisna i strogo kontrolisan proces, pokrenut na dva načina, spoljašnjim stimulusima (vezivanjem liganda za receptore smrti) i unutrašnjim (mitohondrijski put, odnosno „Bcl-2“ kontrolisani put, pokreće se unutarćelijskim signalima posredstvom Bcl-2 (eng. *B-cell lymphoma 2*) familije proteina koji mogu biti proapoptotski (Bax, eng. *Bcl-2 associated X protein*) i antiapoptotski (Bcl-2) [54]. Ipak, bez obzira na poreklo signala, ova dva puta se ukrštaju na nivou proteolitičkih enzima, kaspaza (eng. *cysteine aspartate specific proteases*) [53]. Kaspaza 3 je jedan od najviše proučavanih proteina ove familije, okarakterisana kao najznačajnija egzekutorska kaspaza koja uvodi u ćeliju „tačku bez povratka“, odnosno u apoptotsku smrt [53], jer seče strukturne i signalne proteine, regulatore replikacije, transkripcije i translacije, regulatore apoptoze, i mnoge druge. Sečenjem se mogu aktivirati i dormantni, proapoptotski proteini ili inaktivirati proteini ključni za preživljavanje, kao što je PARP1 (eng. *poly(ADP-ribose) polymerase 1*) [53], jedarni enzim koji ima ulogu u reparaciji oštećene DNK, transkripciji, vazokonstrikciji, regulisanju astrocitne i mikroglialne funkcije, dugotrajnoj memoriji i starenju [55]. Osim toga, u regulaciji brojnih funkcija mozga učestvuje još jedan molekul sa dualnom funkcijom - Erk1/2 (Erk44/42 kDa) koji se nakon aktivacije premešta u jedro i aktivira veliki broj transkripcionih faktora ili ostaje u citosolu gde regulišu druge ćelijske procese [56]. Dodatno, preživljavanje ćelija je regulisano i proteinskom kinazom B (Akt) čiji je signalni put prepoznat kao jedan od najkritičnijih u regulaciji preživljavanja ćelija, jer njegova aktivacija obezbeđuje ćelijama signal za preživljavanje koji je neophodan da se odupru proapoptotskim stimulusima [57].

Pored mnogobrojnih studija koje su se prevashodno bavile proučavanjem uzroka nastanka i progresije cerebrovaskularnih i/ili neurodegenerativnih bolesti, poslednjih nekoliko decenija, u istraživanjima dizajniranja efikasnih terapija za ove bolesti, osim efekata na neurone, proučavaju se i efekti na ne-neuronske ćelije. Opravdanost istraživanja uloge glijalnih ćelija, endotelnih ćelija i drugih, zasniva se na činjenici da su ove ćelije uključene u složenu patogenezu bolesti i da su ključne u neurodegenerativnim, ali i neuroprotektivnim procesima. Treba istaći da su do sada testirana brojna jedinjenja kojima bi se direktnim i/ili indirektnim delovanjem na prethodno spomenute ćelije ublažile posledice bolesti CNS, ali adekvatna terapija još uvek nije dostupna. Ipak, kao potencijalni terapeutici izdvajaju se steroidni hormoni, uključujući progesteron (P4, pregn-4-en-3,20-dion), za koje postoje indikacije da regulišu brojne procese u CNS, od njegovog razvoja, preko neurodegeneracije pa do neuroprotekcije.

## **Steroidni hormoni**

Steroidni hormoni su signalni molekuli koji nastaju iz holesterola i uključeni su u pravilan razvoj i funkcionisanje organizma, odgovor na stres, rad mozga i drugih organa, kao i na različite metaboličke procese. Klasična podela ovih jedinjenja je na: hormone kore nadbubrežne žlezde (kortikosteroidi) u koje se svrstavaju- kortizol/kortikosteron (glukokortikoidi) i aldosteron (mineralokortikoidi); i polne hormone među ko-

jima se razlikuju muški, odnosno, androgeni (testosteron i dihidrotestosteron/androsteron) i ženski (estrogeni i progestini/progestogeni). Treba istaći da steroidni hormoni, ali i njihovi metaboliti i sintetski analozi, u fiziološkim i patofiziološkim stanjima imaju sposobnost da modulišu različite signalne kaskade, i da na taj način kontrolišu sudbinu ćelija [58–69]. Stoga, se široko primenjuju u tretmanima mnogih bolesti, poput MS, edema mozga nastalog usled tumora, autoimunih i upalnih promena, i drugih [67,68].

## Polni hormoni

Rezultati mnogih studija su pokazali da su polni hormoni, pored toga što regulišu polni razvoj i sazrevanje organizma, kao i normalno i polno-zavisno organizovanje mozga i ponašanje koje je posredovano hipotalamo-hipofizno-gonadnom osom, neophodni za preživljavanje neurona [70]. Naime, ove derivate sterola prevashodno sintetišu i luče gonade i nadbubrežne žlezde, ali mogu nastati i u mozgu *de novo* sintezom, te se nazivaju i neurosteroidi. Svoje dejstvo ostvaruju u više regiona CNS tokom normalnog razvića i starenja, dok je njihov poremećen nivo u pojedinim regionima uočen kod obolelih od neurodegenerativnih oboljenja [70]. Kod starijih osoba njihov nizak nivo dovodi se u vezu sa smanjenjem neurogeneze, naročito u HIPP [70]. Kao posledica uočava se smanjenje sposobnosti pamćenja koje je zavisno od godina, ali i poteškoće u izvršavanju pojedinih funkcija [70]. Primećeno je da se, u različitim poremećajima CNS, protektivna svojstva mogu pripisati kako polnim hormonima, njihovim metabolitima, sintetskim analozima, tako i njihovim prekursorima. Tako na primer, uočeno je da testosteron podstiče neurogenezu, razvoj neurona u HIPP, deluje antioksidativno i antiapoptotski, dok smanjenje njegovog nivoa kod osoba muškog pola može uzrokovati poremećaje poput AB, gde je njegov nivo direktno u korelaciji sa nivom proteina A $\beta$  [68]. Primena derivata testosterona, estrogena, takođe ima protektivnu ulogu u modelima moždanog udara, MH nastale trajnim podvezivanjem obe zajedničke karotidne arterije ili središnje moždane arterije pacova (eng. *middle cerebral artery occlusion*, MCAO), i subarahnoidne hemoragije, gde smanjuje obim ćelijske smrti suprimiranjem aktivacije apoptotskih puteva i povećanjem ekspresije gena uključenih u preživljavanje ćelija [62,63,68]. Literaturni podaci ukazuju da dehidroepiandrosteron (DHEA), prekursor testosterona, ali i estrogena, deluje zaštitno u različitim eksperimentalnim modelima neurodegenerativnih poremećaja, poput ishemijske TPM, povrede kičmene moždine, prolazne ishemijske povrede mozga, i drugih [64,65,70], dok pregnenolon, osim što je prekursor drugih hormona poput P4, deluje i kao protivupalni molekul koji održava imunološku homeostazu u različitim upalnim stanjima. Pokazano je da pregnenolon i njegovi metabolički derivati ostvaruju blagotvorne učinke na mozak, uključujući poboljšanje pamćenja i učenja i modulaciju kognitivnih funkcija. Smanjen nivo pregnenolona je uočen kod neuroupalnih bolesti, poput AB, MS, šizofrenije, depresije, autizma, što naglašava njegovu ulogu u neuroprotekciji i neuroregeneraciji [69].

Krajem '80-tih godina prošlog veka, proučavajući oporavak pacijenata nakon TPM, istraživači okupljeni oko dr Donalda Štajna su primetili da se žene oporavljaju uspešnije u odnosu na pacijente muškog pola, ističući hormonsku osnovu ovakvog odgovora kao potencijalni razlog. Serije eksperimenata sprovedenih na pacovima, potvrdile su pretpostavku da se, nakon identičnih povreda, ženke pacova oporavljaju efikasnije u odnosu na mužjake, kao i da stepen oporavka zavisi od faze estrusnog ciklusa u kojoj se životinja nalazi. Tako, ženke u proestrusu (fazi ciklusa u kojoj je nivo estrogena povišen, a nivo P4 snižen) razvijaju značajno manje oštećenje mozga, dok lažno-trudne ženke (kod kojih je nivo P4 visok) nisu pokazivale oštećenja mozga u odnosu na kontrolne, muške jedinke. Uočeno potencijalno neuroprotektivno dejstvo steroidnog/polnog hormona P4 u ovom modelu sistema je kasnije podstaklo mnoge istraživače da detaljnije ispituju njegovu ulogu u drugim modelima različitih bolesti CNS, ali i da primene ovaj potencijalni terapeutik u kliničkim ispitivanjima [71]. Dodatnu mogućnost za neuroprotekciju pružaju i neuroaktivni metaboliti P4



u koje se on može konvertovati: 5 $\alpha$ -dihidroprogesteron (5 $\alpha$ -DHPROG) i 3 $\alpha$ ,5 $\alpha$ -tetrahidroprogesteron (3 $\alpha$ -5 $\alpha$ -THPROG, alopregnanolon, ALO) koji, takođe, ostvaruju specifične efekte u mozgu [67].

## Progesteron

Iako nazvani po ulozi u održavanju trudnoće (pro-gestacija), progestogeni imaju ulogu i u drugim fazama estrusnog, odnosno menstrualnog ciklusa. Ovi hormoni obuhvataju kako prirodne, tako i sintetske članove, koji se zajedno sa spolja unetim hormonima ove grupe, uobičajeno, nazivaju progestini [72].

P4 stvaraju jajnici, nadbubrežne žlezde, kao i placenta tokom trudnoće, a skladišti se u masnom tkivu. U mozgu potiče iz moždanih ćelija, ćelija kičmene moždine i perifernog nervnog sistema, koje ga sintetišu direktno iz holesterola, ali i iz perifernih tkiva iz kojih se oslobađa u krv i tako dospeva do mozga [72]. Najbitnije uloge P4 uključuju supresiju seksualnog nagona, održavanje trudnoće sprečavanjem kontrakcija materice i podsticanjem razvoja žlezda endometrijuma, ali i alveolarnog razvoja mlečnih žlezda [72]. Ovaj potentni steroidni hormon ispoljava pored reproduktivnih i ne-reproduktivna svojstva. Tako na primer, P4 reguliše širok spektar moždanih funkcija modulacijom ekspresije gena, regulacijom neurotransmiterske signalizacije, manifestacijom epigenetske aktivnosti, ali i pojačavanjem efekata estrogena [70,72].

Zbog svoje lipofilne prirode, lako prolazi kroz membrane ćelija, a efekte, kod oba pola, ostvaruje preko specifičnih receptora koji su prisutni u regionima mozga, kao što su HIP, PFC, ali i u hipotalamusu, srednjem bademastom jedru, i drugim [73]. Do sada su opisana tri tipa progesteronskih receptora:

- jedarni (klasični) prisutni u ćelijama u dve izoforme- PRA (molekulske mase ~ 94 kDa) i PRB (molekulske mase ~ 120 kDa) koje kodira isti gen, ali se prepisuju sa različitih promotora;
- transmembranski (mPR)- specifični receptori vezani za membranu, uključeni u brze ne-genomske aktivnosti P4 [73,74], uključujući kontrolu aktivnosti dopaminskog sistema i sistema  $\gamma$ -amino buterne kiseline (GABA) u mnogim regionima CNS, odnosno kori prednjeg mozga, malom mozgu, repatom jedru, talamusu, hipofizi i kičmenoj moždini [75];
- membranski vezani (eng. *progesterone receptor membrane component 1*, PGRMC1) smešteni uz membrane endoplazmatičnog retikuluma i Goldži aparata, i uključeni u aktivaciju mitogenom aktiviranih protein kinaza (MAPK) [74].

## Molekulski mehanizmi delovanja progesterona

Literaturni podaci ukazuju na dualno delovanje P4: genomsko i ne-genomsko. Genomsko ili klasično delovanje ostvaruje se preko PRA i PRB koje odlikuje sposobnost brzog premeštanja iz citosola u jedro. U nevezanom obliku, ovi receptori se nalaze u citosolu u kompleksu sa šaperonskim molekulima, poput proteina toplotnog šoka (eng. *heat shock protein*, HSP), koji se po vezivanju liganda, odnosno P4, oslobađaju. PR se potom dimerizuju i premeštaju u jedro gde se vezuju za specifična palindromska vezujuća mesta na molekulu DNK (eng. *progesterone response elements*, PRE) u promotorskim regionima gena, što dalje pokreće transkripciju [67]. S druge strane, ne-genomski (ili ne-klasični) način delovanja podrazumeva aktivaciju receptora na ćelijskoj membrani, citosolnih PR i/ili delovanje putem unutarćelijske kaskade preko sekundarnih glasnika. Naime, P4 po vezivanju za mPR, ali i citosolne PR [76] moduliše nastanak cAMP (ciklični adenzin monofosfat), inhibira adenil ciklazu, i drugo [77]. Dok se vezivanjem P4 za PGRMC1 pokreće Erk1/2 signalna kaskada koja je odgovorna za oslobađanje neurotrofnog moždanog faktora (eng. *brain derived neurotrophic factor*, BDNF) jednog od ključnih posrednika zaštitnih osobina P4 [78]. Promene nastale brзом P4 akcijom, mogu biti jakog intenziteta i dugotrajne [79].

## Terapijski potencijal progesterona u animalnim modelima cerebrovaskularnih i/ili neurodegenerativnih bolesti

Podaci prikupljeni tokom nekoliko decenja istraživanja ukazuju da primena P4 na višestruke načine moduliše ili usporava destruktivne procese u mozgu [80]. Između ostalog, primećeno je da aplikacija P4 smanjuje razvoj moždanog edema, moduliše dejstvo inhibitornog neurotransmitera GABA, smanjuje LPO, i stepen OS, ograničava oslobađanje upalnih citokina, i smanjuje obim ćelijske smrti [80].

Oticanje moždanog tkiva se dovodi u vezu sa visokim mortalitetom, ne samo kod osoba izloženih TPM, nego i kod pacijenata koji imaju tumore mozga ili su pretrpeli moždani udar. U pomenutim stanjima, upalne reakcije pokreću dezintegraciju moždanog tkiva što uzrokuje edem i dalji gubitak ćelija. Potrebno je naglasiti da se edem javlja u dve faze, vazogenoj i citotoksičnoj. Vazogeni edem nastaje narušavanjem KMB što omogućava ulazak tečnosti u parenhim mozga, povećavajući unutarlobanjski pritisak i uzrokujući dalji gubitak ćelija. S druge strane, citotoksična faza edema se javlja usled nakupljanja tečnosti u neuronima i reaktivnim astrocitima narušavajući strukturu i funkciju ćelija, uzrokujući oslobađanje dodatnih toksičnih agenasa u parenhim mozga i ulazak u ciklus sekundarne ćelijske smrti, uglavnom nakon TPM. Upravo, P4 redukuje obe vrste edema u svim prethodno navedenim stanjima. U osnovi ovakvog odgovora, najverovatnije, leži sposobnost P4 da poveća nivo GABA [80], inhibira rad  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaze, reguliše nivo vazopresina, ali i smanji nivo akvaporina 4 i 9, strukturnih komponenti kanala za vodu u membranama stopala astrocita i mikroglije, koji deluju kao osmosenzori i kontrolišu drenažu tečnosti u ventrikule mozga [71]. Upravo, smatra se da bi zbog ovih osobina primena P4 mogla biti efikasna u kontroli katamenijalne epilepsije, stanja uzrokovano visokim nivoom estrogena, a koje je primećeno kod nekih osoba tokom određenih faza menstrualnog ciklusa [71].

Sledeći način na koji P4 ispoljava svoje protektivne osobine je usko vezan sa modulacijom odgovora ćelija na OS. Naime, pokazano je da je P4 odgovoran za smanjenje nivoa LPO, sprečavanje stvaranja slobodnih radikala i povećanje efikasnosti komponenti AO sistema zaštite [81], što doprinosi očuvanju integriteta membrane i stabilizaciji KMB. Naime, iako P4 nema karakterističnu strukturu antioksidanta, visoki nivoi hormona su efikasni u smanjenju oštećenja izazvanih slobodnim radikalima, što je potvrđeno i kod trudnih ženki pacova [81–84]. Primena P4 na dozno-zavisani način smanjuje LPO u različitim *in vitro* sistemima u kojima se stvaraju slobodni radikali [82,84]. Takođe, primena ovog steroida povećava nivo mitohondrijalnog GSH, kritičnog hvatača slobodnih radikala [85], održava funkciju mitohondrija i smanjuje povećanje nivoa SOD izazvano povredama [71]. Primećeno je i da P4 dovodi do smanjenja količine nitrita, SOD i  $\text{H}_2\text{O}_2$  koje stvaraju makrofagi kao odgovor na citokine [86], kao i da smanjenje stepena upalnih procesa može nastati usled P4-posredovanog sniženja nivoa citokina, aktiviranja i pospešivanja migracije imunskih ćelija [87–89]. Naime, povrede, poput TPM izazivaju izraženu upalnu reakciju, s teškom gliozom uočenom u područjima mozga proksimalno i distalno od povrede, što dalje doprinosi invaziji makrofaga i neutrofila u povređenu oblast. Smatra se da je jedan od najvažnijih mehanizama koji leži u osnovi zaštitnih svojstava P4, upravo, prevencija ili usporavanje upalnih reakcija izazvanih citokinima, snažnim aktivatorima upalnog procesa, poput interleukina-1 (IL-1), interleukina-6 (IL-6), faktora nekroze tumora (TNF), i drugih [80]. Konačno, svi opisani štetni procesi, koje ovaj hormon moduliše, za rezultat mogu imati smrt ćelije. Ipak, primena P4 ograničava gliozu [88], ali i apoptozu stabilizacijom mitohondrija i inhibicijom aktivnosti proapoptotskih enzima, ali i aktiviranjem antiapoptotskih signalnih puteva [88,90]. Jedan od načina na koje deluje je i smanjenje nivoa kaspaze 3, Bax i Akt, ali i modulacija, odnosno, povećanje ekspresije antiapoptotskih proteina, poput Bcl-2 i Erk [57,60,61,88,90,91]. Budući da je sposoban da utiče na raznovrsne procese u ćelijama koji su prethodno opisani, nije začuđujuće da se P4 pokazao neuroprotektivnim u različitim modelima cerebrovaskularnih i/ili

neurodegenerativnih bolesti, ali i stanja, poput TPM. Tako na primer, eksperimenti na animalnim TPM modelima pokazali su da P4, ali i njegov metabolit ALO, ostvaruju kako kratkoročne, tako i dugoročne efekte, poput smanjenja oticanja mozga, održavanja strukture i funkcije KMB, intrakranijalnog pritiska [92]. Takođe, zapaženo je i da ublažavaju povećanje nivoa upalnih citokina, kao što su TNF, IL-6 i IL-1 [93], povećavaju ekspresiju antioksidativnih enzima, uključujući i SOD [94], neutrališu prekomerno nastale slobodne radikale, sprečavaju ulazak kalcijuma, pojačavaju angiogenezu i promovišu oporavak neuralne funkcije [95]. Dodatno, Li i saradnici (2012) su pokazali da P4 povećava nivo cirkulišućih endotelnih progenitorskih ćelija (EPC) i pospešuje neurovaskularnu popravku kod pacova [96]. Ista grupa autora je u sledećoj studiji pokazala da P4, aplikovan u niskoj dozi, preko PRB, za kratko vreme poboljšava preživljavanje EPC aktiviranjem Akt signalnog puta, stimuliše formiranje kapilara, adheziju i migraciju EPC čime se povećava njihova angiogena aktivnost [95]. Ovakvi protektivni efekti nakon primene P4 su praćeni i značajnim poboljšanjem kognicije, generalne funkcionalnosti [97], uključujući i poboljšanje lokomotorne aktivnosti i performansi na Morisovom testu vodenog lavirinta [88,90,93], kao i smanjenje anksioznosti [90].

Učinkovitost P4 je pokazana i u drugim animalnim modelima cerebrovaskularnih povreda mozga, poput moždanog udara u kojem P4 održava integritet KMB, smanjuje hemoragijsku transformaciju, upalni odgovor, mitohondrijsku disfunkciju i oksidativna oštećenja, kao i apoptozu [67], ali i pospešuje neurogenezu i preživljavanje novostvorenih neurona [67]. Tako na primer, nakon MCAO, P4 u dozi od 8 mg/kg nakon 48 h poboljšava preživljavanje i motoričke funkcije [71,98]. Interesantno, ova neuroprotekcija je primetna bilo da je tretman primenjen pre ili post ishemijski. P4 apliciran pre MCAO, ali i njegova postishemijska aplikacija u istom modelu izazvanom na drugi način, smanjuje veličinu lezije i poboljšava funkcionalni oporavak kod pacova [67,99], dok kod ovarijektomisanih mačaka, P4 aplikovan u dozi od 10 mg/kg dnevno, 7 dana pre i nakon globalne moždane ishemije čuva integritet i funkciju neurona strijatuma [100,101]. Treba istaći, da pored P4 u ovom modelu, adekvatnu zaštitu može pružiti i njegov metabolit, ALO, koji, takođe, redukuje veličinu lezije, disfunkciju KMB, upalne procese i deficite u ponašanju [67].

Što se tiče zaštite u prvim trenucima nakon moždanog udara, primećeno je kratkotrajno početno povećanje nivoa endogenog P4 u mozgu, što ukazuje da ovaj hormon može pružiti ranu endogenu zaštitu [67]. Različitim studijama je, pak, pokazano da je optimalna doza za primenu ovog hormona u modelu moždanog udara 8 mg/kg, kao i da on pruža zaštitu čak i kad se primeni 6 h nakon ishemije, što bi za potencijalnu primenu kod ljudi ostavilo dosta vremena za aplikaciju. Literaturni podaci ukazuju da je u osnovi, protektivni odgovor u uslovima nametnute MCAO, PR-posredovan i da endogeni P4, 6 h i 24 h nakon MCAO, smanjuje veličinu lezije i oštećenje motornih funkcija. S druge strane, dodatno unet, egzogeni P4, pruža dugotrajniju neuroprotekciju, takođe, posredstvom PR [102–104]. Pretpostavlja se da je za ovu protekciju odgovoran isključivo P4, a ne ALO, što je pokazano na nokaut miševima od kojih su PR<sup>-/-</sup>, ali i PR<sup>+/-</sup> miševi imali veće lezije nakon MCAO u odnosu na PR<sup>+/+</sup> miševe. Upravo, rezultati ove studije ukazuju da bio-konverzija P4 u ALO nije mehanizam kojim P4 ispoljava neuroprotektivni efekat, inače bi tretman P4 bio neuroprotektivan i kod PR<sup>-/-</sup> miševa [104]. Takođe, pored prisustva PR, za zaštitu je neophodan i odgovorajući nivo PR, s obzirom da je pokazano da P4 smanjuje veličinu lezija kod PR<sup>+/+</sup> miševa, ali ne i kod heterozigota [67].

Iako PR predstavlja glavnog posrednika neuroprotektivnih efekata P4 nakon moždane ishemije, nije isključeno da i dodatni medijatori, kao i uključivanje specifičnih signalnih puteva može biti ključno za P4-posredovanu neuroprotekciju. Tako na primer, Cai i saradnici (2008) su pokazali da je aktivacija Src-Erk1/2 kaskade putem PR odgovorna za neuroprotektivne efekte P4 uočene 48 h nakon MCAO [105], dok inhibicija Akt signalnog puta, koji reguliše upalne procese i preživljavanje ćelija, smanjuje zaštitne efekte P4 24 h nakon MCAO [92].



Dodatno, pokazano je da P4 kod mužjaka pacova nakon nametanja MH ostvaruje regionalno-specifično dejstvo, odnosno uzrokuje donekle različite efekte na nivou morfoloških karakteristika ćelija, obima ćelijske smrti, ali i signalne kaskade u PFC i HIPPO, što je praćeno poboljšanjem kognitivnih i lokomotornih sposobnosti mužjaka pacova [60,61]. Naime, primećeno je da u PFC aplikovani hormon umanjuje DNK fragmentaciju, uspostavlja pro/antioksidativnu ravnotežu što je najverovatnije postignuto kompenzatornom aktivnošću enzima CAT, povećanjem nivoa protektivnog NO nastalog aktivnošću eNOS i smanjenjem obima LPO [60,61]. Dalje, ovaj polni hormon ublažava MH-posredovano smanjenje ekspresije PRA i PRB, moduliše ekspresiju gena i proteina uključenih u apoptotske procese, a reguliše i Akt/Erk/eNOS/NO signalni put, što bi, barem delimično, moglo biti odgovorno za uočene neuroprotektivne efekte P4 u PFC u korišćenom modelu. Pored toga, u HIPPO, P4 ispoljava sposobnost blagog smanjenja intenziteta OS/NS povećanjem aktivnosti komponenti AO zaštite, poput SOD i GST, i u manjoj meri CAT; poništava MH-posredovano smanjenje ekspresije PRA i PRB, moduliše ekspresiju gena i proteina uključenih u apoptotske procese i time smanjuje obim ćelijske smrti. Interesantno, u ovom moždanom regionu, P4 ne reguliše Akt/Erk/eNOS/NO signalni put, kao što to čini u PFC, odnosno, ograničava MH-narušen Akt signalni put, dok NO nastaje, najverovatnije, delovanjem nNOS [60,61].

Efikasnost P4 tretmana uočena je i u animalnim AB modelima. Tako na primer, tretman ženki miša u AB modelu sa P4 ili sa P4 u kombinaciji sa estradiolom tokom 3 meseca specifično umanjuje hiperfosforilaciju Tau proteina i formiranje neurofibrilarnih klubadi [106]. Slični efekti su detektovani i nakon primene ALO u istom modelu, odnosno, uočeno je povećanje stope neurogeneze, poboljšanje kognitivnih funkcija i pamćenja, smanjenje upalnih procesa i akumulacije A $\beta$  [107–110]. S druge strane, proučavanje efekata P4 u animalnim PB modelima nije pružilo smislene i konačne zaključke o terapijskom potencijalu P4, s obzirom da efekti variraju zavisno od doze P4, načina primene, pola i korišćenog modela [67]. Nasuprot tome, u animalnim PB modelima, ALO se pokazao kao uspešniji time što je uticao na poboljšanje kognitivnih i motoričkih funkcija [67], što ovaj metabolit izdvaja kao potencijalni terapeutik u lečenju obolelih od PB.

Nekoliko studija je pokazalo i da tretman P4 stimuliše sintezu neurotrofnih faktora, kao što je BDNF, što je izuzetno značajno kod povreda kičmene moždine gde je nivo BDNF smanjen za čak 50% [111–113]. Osim toga, P4 se pokazao i učinkovit kod hroničnih demijelinizujućih oboljenja, poput ALS i MS [112–116]. Naime, u animalnom ALS modelu, kod Wobbler miševa koji ispoljavaju degeneraciju motornih neurona, P4 smanjuje neuropatologiju i povećava mijelinizaciju posredovanu oligodendrocitima [112–114], dok u kuprizonskom modelu MS, P4 smanjuje degeneraciju oligodendrocita, povećava broj njihovih progenitora, smanjuje astrogliozu, demijelinizaciju, neurološke deficite kod mužjaka miševa [115] i ispoljava protivupalno dejstvo [117]. Kod ženki miševa, u istom modelu, P4 i njegov sintetski derivat nestoron, selektivni ligand PR visokog afiniteta, pokreću reparaciju mijelina u moždanoj kori i žuljevitom telu (lat. *corpus callosum*) [116]. Efikasnost P4, ALO i nestorona, odnosno promijelinizacija, neuroprotektivni i protivupalni efekti, su pokazani i u eksperimentalnom modelu autoimunog encefalomijelitisa (EAE) [111,118,119].

### **Klinička ispitivanja učinkovitosti progesterona u cerebrovaskularnim i/ili neurodegenerativnim bolestima**

Uprkos višestrukim koristima primene P4 u eksperimentalnim modelima TPM i obećavajućim rezultatima Faze II kliničkih ispitivanja, dve Faze III kliničkih ispitivanja nisu uspele da dokažu dobrobiti korišćenja ovog hormona. Neka od mogućih objašnjenja ovakvog ishoda su velika heterogenost pacijenata koji su učestvovali u studijama, u odnosu na pol, godine, stepen oštećenja izazvan TPM, subjektivna merenja i praćenje pacijenata samo u kraćem vremenskom periodu [67,120]. Dodatno, pacijenti sa TPM koji su primali P4

imali su i 100 puta više P4 u plazmi nego pacijenti koji su primili placebo lek, što može uticati na zasićenost PR i njihovu dozno-zavisnu aktivaciju- veće doze ovog hormona mogu ne samo zasiti jedarne PR, već i aktivirati mPR i PGRMC1. Visoke doze, takođe, mogu izazvati desenzibilizaciju receptora ili smanjenje njihove ekspresije, zasićenje puteva koji vode do konverzije prekursora u neuroaktivne metabolite ili pokretanje inaktivirajućih metaboličkih puteva, što može biti uzrok odsustva pozitivnog odgovora pacijenata sa TPM na P4 tretmane [67]. Osim toga, rezultati nekoliko sprovedenih meta-analiza su ukazali na nemogućnost smanjenja stope smrtnosti nakon P4 tretmana, dok su druge studije ukazale protektivna dejstva P4 nakon TPM, ali samo tokom prva 3 meseca od nastanka povrede, ne i nakon 6 meseci [67].

Treba istaći da je u skorije vreme planirano otpočinjanje Faze II kliničkih ispitivanja u kojima bi bio istražen potencijal ALO u otklanjanju simptoma depresije, bola i oporavku u nekoliko vremenskih tačaka kod pacijenata sa blagim TPM [67].

## **Zaključak**

P4, potentni steroidni hormon, njegovi neuroaktivni metaboliti, poput ALO, ali i sintetski analozi, kao što je nestoron, ispoljavaju plejotropne zaštitne efekte, smanjujući strukturna i funkcionalna oštećenja mozga u različitim animalnim modelima cerebrovaskularnih i/ili neurodegenerativnih bolesti, delujući ne samo na neurone, već i na glijalne i endotelne ćelije, i druge. Iako se u kliničkim ispitivanjima, za sada, P4 pokazao kao neadekvatan terapeutik u lečenju pacijenata sa TPM, moguće je da bi u drugim cerebrovaskularnim i/ili neurodegenerativnim bolestima i drugim neuropatološkim stanjima u humanoj populaciji, ili/i primenjen drugačijim vidom aplikacije, uključujući dužinu upotrebe/dozu/način aplikacije, sam ili/i u kombinaciji sa drugim agensima, pokazao ohrabrujuće rezultate. Stoga su neophodne dodatne kliničke studije u kojima bi se pratio potencijalni neuroprotektivni P4 efekat kod ljudi sa ovim dijagnozama.

## **Zahvalnica**

Izrada ovog rada je omogućena zahvaljujući projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, broj ugovora **451-03-68/2022-14/200017**.

## Literatura

1. Mayne K, White JA, McMurrin CE, Rivera FJ, de la Fuente AG. Aging and Neurodegenerative Disease: Is the Adaptive Immune System a Friend or Foe? *Front Aging Neurosci.* 2020;12:572090.
2. Dugger BN, Dickson DW. Pathology of Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017;9(7):a028035.
3. Farkas E, Luiten PGM, Bari F. Permanent, Bilateral Common Carotid Artery Occlusion in the Rat: A Model for Chronic Cerebral Hypoperfusion-Related Neurodegenerative Diseases. *Brain Research Reviews.* 2007;54(1):162–80.
4. Gallego I, Villate-Beitia I, Saenz-del-Burgo L, Puras G, Pedraz JL. Therapeutic Opportunities and Delivery Strategies for Brain Revascularization in Stroke, Neurodegeneration, and Aging. *Pharmacol Rev.* 2022;74(2):439–61.
5. Ohta S, Meyer E, Thompson CJ, Gjedde A. Oxygen Consumption of the Living Human Brain Measured after a Single Inhalation of Positron Emitting Oxygen. *J Cereb Blood Flow Metab.* 1992;12(2):179–92.
6. Gordon GRJ, Mulligan SJ, MacVicar BA. Astrocyte Control of the Cerebrovasculature. *Glia.* 2007;55(12):1214–21.
7. Hatakeyama M, Ninomiya I, Kanazawa M. Angiogenesis and Neuronal Remodeling after Ischemic Stroke. *Neural Regen Res.* 2020;15(1):16.
8. Ekker MS, Boot EM, Singhal AB, Tan KS, Debette S, Tuladhar AM, et al. Epidemiology, Aetiology, and Management of Ischaemic Stroke in Young Adults. *The Lancet Neurology.* 2018;17(9):790–801.
9. Beal CC. Gender and Stroke Symptoms: A Review of the Current Literature. *Journal of Neuroscience Nursing.* 2010;42(2):80–7.
10. Jung S, Gilgen M, Slotboom J, El-Koussy M, Zubler C, Kiefer C, et al. Factors that Determine Penumbra Tissue Loss in Acute Ischaemic Stroke. *Brain.* 2013;136(12):3554–60.
11. Hebert LE, Bienias JL, Aggarwal NT, Wilson RS, Bennett DA, Shah RC, et al. Change in Risk of Alzheimer Disease Over Time. *Neurology.* 2010;75(9):786–91.
12. Michaelson DM. *APOE*  $\epsilon$ 4: The Most Prevalent Yet Understudied Risk Factor for Alzheimer's Disease. *Alzheimer's & Dementia.* 2014;10(6):861–8.
13. Gorelick PB. Risk Factors for Vascular Dementia and Alzheimer Disease. *Stroke.* 2004;35:2620–2.
14. Green RC. Risk of Dementia Among White and African American Relatives of Patients With Alzheimer Disease. *JAMA.* 2002;287(3):329.
15. Lautenschlager NT, Cupples LA, Rao VS, Auerbach SA, Becker R, Burke J, et al. Risk of Dementia Among Relatives of Alzheimer's Disease Patients in the MIRAGE Study: What is in Store for the Oldest Old? *Neurology.* 1996;46(3):641–50.
16. Mayeux R, Sano M, Chen J, Tatemichi T, Stern Y. Risk of Dementia in First-Degree Relatives of Patients With Alzheimer's Disease and Related Disorders. *Archives of Neurology.* 1991;48(3):269–73.
17. Bersini S, Arrojo e Drigo R, Huang L, Shokhirev MN, Hetzer MW. Transcriptional and Functional Changes of the Human Microvasculature during Physiological Aging and Alzheimer Disease. *Adv Biosys.* 2020;4(5):2000044.
18. Liesz A. The Vascular Side of Alzheimer's Disease. *Science.* 2019;365(6450):223–4.
19. Di Marco LY, Farkas E, Martin C, Venneri A, Frangi AF. Is Vasomotion in Cerebral Arteries Impaired in Alzheimer's Disease? *JAD.* 2015;46(1):35–53.
20. Biron KE, Dickstein DL, Gopaul R, Jefferies WA. Amyloid Triggers Extensive Cerebral Angiogenesis Causing Blood Brain Barrier Permeability and Hypervascularity in Alzheimer's Disease. *PLoS ONE.* 2011;6(8):e23789.
21. Román GC. Brain Hypoperfusion: A Critical Factor in Vascular Dementia. *Neurological Research.* 2004;26(5):454–8.
22. van Es MA, Hardiman O, Chio A, Al-Chalabi A, Pasterkamp RJ, Veldink JH, et al. Amyotrophic Lateral Sclerosis. *The Lancet.* 2017;390(10107):2084–98.
23. Garbuzova-Davis S, Rodrigues MCO, Hernandez-Ontiveros DG, Louis MK, Willing AE, Borlongan CV, et al. Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Neurovascular Disease. *Brain Research.* 2011;1398:113–25.
24. Jullienne A, Obenaus A, Ichkova A, Savona-Baron C, Pearce WJ, Badaut J. Chronic Cerebrovascular Dysfunction After Traumatic Brain Injury: Cerebrovascular Dysfunction After TBI. *Journal of Neuroscience Research.* 2016;94(7):609–22.
25. Johnson VE, Stewart W, Smith DH. Traumatic Brain Injury and Amyloid- $\beta$  Pathology: A Link to Alzheimer's Disease? *Nat Rev Neurosci.* 2010;11(5):361–70.

26. Pop V, Badaut J. A Neurovascular Perspective for Long-Term Changes After Brain Trauma. *Transl Stroke Res.* 2011;2(4):533–45.
27. Smith DH, Johnson VE, Stewart W. Chronic Neuropathologies of Single and Repetitive TBI: Substrates of Dementia? *Nat Rev Neurol.* 2013;9(4):211–21.
28. Hou Y, Dan X, Babbar M, Wei Y, Hasselbalch SG, Croteau DL, et al. Ageing as a Risk Factor for Neurodegenerative Disease. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(10):565–81.
29. Verheggen ICM, de Jong JJA, van Boxtel MPJ, Gronenschild EHBM, Palm WM, Postma AA, et al. Increase in Blood-Brain Barrier Leakage in Healthy, Older Adults. *GeroScience.* 2020;42(4):1183–93.
30. Leenders KL, Perani D, Lammertsma AA, Heather JD, Buckingham P, Jones T, et al. Cerebral Blood Flow, Blood Volume and Oxygen Utilization: Normal Values and Effect of Age. *Brain.* 1990;113(1):27–47.
31. Zou Q, Wu CW, Stein EA, Zang Y, Yang Y. Static and Dynamic Characteristics of Cerebral Blood Flow During the Resting State. *NeuroImage.* 2009;48(3):515–24.
32. Camici GG, Savarese G, Akhmedov A, Lüscher TF. Molecular Mechanism of Endothelial and Vascular Aging: Implications for Cardiovascular Disease. *Eur Heart J.* 2015;36(48):3392–403.
33. Carvalho C, Moreira PI. Oxidative Stress: A Major Player in Cerebrovascular Alterations Associated to Neurodegenerative Events. *Front Physiol.* 2018;9:806.
34. Ungvari Z, Tucsek Z, Sosnowska D, Toth P, Gautam T, Podlutzky A, et al. Aging-Induced Dysregulation of Dicer1-Dependent MicroRNA Expression Impairs Angiogenic Capacity of Rat Cerebromicrovascular Endothelial Cells. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences.* 2013;68(8):877–91.
35. Ungvari Z, Tarantini S, Sorond F, Merkely B, Csiszar A. Mechanisms of Vascular Aging, A Geroscience Perspective. *Journal of the American College of Cardiology.* 2020;75(8):931–41.
36. Gemma C, Vila J, Bachstetter A, Bickford PC. Oxidative Stress and the Aging Brain: From Theory to Prevention. *Frontiers in Neuroscience.* 2007.
37. Huang Y, Li W, Su Z yuan, Kong ANT. The Complexity of the Nrf2 Pathway: Beyond the Antioxidant Response. *The Journal of Nutritional Biochemistry.* 2015;26(12):1401–13.
38. Ding K, Wang H, Xu J, Li T, Zhang L, Ding Y, et al. Melatonin Stimulates Antioxidant Enzymes and Reduces Oxidative Stress in Experimental Traumatic Brain Injury: the Nrf2–ARE Signaling Pathway as a Potential Mechanism. *Free Radical Biology and Medicine.* 2014;73:1–11.
39. Sajja RK, Kaiser MA, Vijay V, Desai VG, Prasad S, Cucullo L. In Vitro Modulation of Redox and Metabolism Interplay at the Brain Vascular Endothelium: Genomic and Proteomic Profiles of Sulforaphane Activity. *Sci Rep.* 2018;8(1):12708.
40. Buendia I, Michalska P, Navarro E, Gameiro I, Egea J, León R. Nrf2–ARE Pathway: An Emerging Target Against Oxidative Stress and Neuroinflammation in Neurodegenerative Diseases. *Pharmacology & Therapeutics.* 2016;157:84–104.
41. Sivandzade F, Prasad S, Bhalerao A, Cucullo L. NRF2 and NF- $\kappa$ B Interplay in Cerebrovascular and Neurodegenerative Disorders: Molecular Mechanisms and Possible Therapeutic Approaches. *Redox Biology.* 2019;21:101059.
42. Weight SC, Nicholson ML. Nitric Oxide and Renal Reperfusion Injury: A Review. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery.* 1998;16(2):98–103.
43. Levine AB, Punihaoale D, Levine TB. Characterization of the Role of Nitric Oxide and Its Clinical Applications. *Cardiology.* 2012;122(1):55–68.
44. Dawson VL, Dawson TM. Nitric oxide neurotoxicity. *Journal of Chemical Neuroanatomy.* 1996;10(3–4):179–90.
45. Leist M, Fava E, Montecucco C, Nicotera P. Peroxynitrite and Nitric Oxide Donors Induce Neuronal Apoptosis by Eliciting Autocrine Excitotoxicity. *European Journal of Neuroscience.* 1997;9(7):1488–98.
46. Cohen R, Adachi T. Nitric-Oxide-Induced Vasodilatation: Regulation by Physiologic S-Glutathiolation and Pathologic Oxidation of the Sarcoplasmic Endoplasmic Reticulum Calcium ATPase. *Trends in Cardiovascular Medicine.* 2006;16(4):109–14.
47. Matsushita K, Morrell CN, Cambien B, Yang SX, Yamakuchi M, Bao C, et al. Nitric Oxide Regulates Exocytosis by S-Nitrosylation of N-ethylmaleimide-Sensitive Factor. *Cell.* 2003;115(2):139–50.
48. Sandberg M, Patil J, D'Angelo B, Weber SG, Mallard C. NRF2-Regulation in Brain Health and Disease: Implication of Cerebral Inflammation. *Neuropharmacology.* 2014;79:298–306.

49. Suzuki T, Yamamoto M. Molecular Basis of the Keap1–Nrf2 System. *Free Radical Biology and Medicine*. 2015;88:93–100.
50. Attia AA, ElMazoudy RH, El-Shenawy NS. Antioxidant Role of Propolis Extract Against Oxidative Damage of Testicular Tissue Induced by Insecticide Chlorpyrifos in Rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 2012;103(2):87–93.
51. Masella R, Di Benedetto R, Vari R, Filesi C, Giovannini C. Novel Mechanisms of Natural Antioxidant Compounds in Biological Systems: Involvement of Glutathione and Glutathione-Related Enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2005;16(10):577–86.
52. Kašparová S, Brezová V, Valko M, Horecký J, Mlynárik V, Liptaj T, et al. Study of the Oxidative Stress in a Rat Model of Chronic Brain Hypoperfusion. *Neurochemistry International*. 2005;46(8):601–11.
53. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. *Toxicol Pathol*. 2007;35(4):495–516.
54. Danial NN, Korsmeyer SJ. Cell Death. *Cell*. 2004;116(2):205–19.
55. Sung YJ, Ambron RT. PolyADP-Ribose Polymerase-1 (PARP-1) and the Evolution of Learning and Memory. *Bioessays*. 2004;26(12):1268–71.
56. Kim EK, Choi EJ. Pathological Roles of MAPK Signaling Pathways in Human Diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2010;1802(4):396–405.
57. Yao R, Cooper GM. Requirement for Phosphatidylinositol-3 Kinase in the Prevention of Apoptosis by Nerve Growth Factor. *Science*. 1995;267(5206):2003–6.
58. Drakulić D, Veličković N, Stanojlović M, Grković I, Mitrović N, Lavrnja I, et al. Low-Dose Dexamethasone Treatment Promotes the Pro-Survival Signalling Pathway in the Adult Rat Prefrontal Cortex. *J Neuroendocrinol*. 2013;25(7):605–16.
59. Drakulić D, Stanojlović M, Nedeljković N, Grković I, Veličković N, Guševac I, et al. Upregulation of Nucleoside Triphosphate Diphosphohydrolase-1 and Ecto-5'-Nucleotidase in Rat Hippocampus after Repeated Low-Dose Dexamethasone Administration. *J Mol Neurosci*. 2015;55(4):959–67.
60. Stanojlović M, Guševac Stojanović I, Zarić M, Martinović J, Mitrović N, Grković I, et al. Progesterone Protects Prefrontal Cortex in Rat Model of Permanent Bilateral Common Carotid Occlusion via Progesterone Receptors and Akt/Erk/eNOS. *Cell Mol Neurobiol*. 2020;40(5):829–43.
61. Stanojlović M, Guševac I, Grković I, Zlatković J, Mitrović N, Zarić M, et al. Effects of Chronic Cerebral Hypoperfusion and Low-Dose Progesterone Treatment on Apoptotic Processes, Expression and Subcellular Localization of Key Elements Within Akt and Erk Signaling Pathways in Rat Hippocampus. *Neuroscience*. 2015;311:308–21.
62. Stanojlović M, Zlatković J, Guševac I, Grković I, Mitrović N, Zarić M, et al. Repeated Low-Dose 17 $\beta$ -estradiol Treatment Prevents Activation of Apoptotic Signaling Both in the Synaptosomal and Cellular Fraction in Rat Prefrontal Cortex Following Cerebral Ischemia. *Neurochemistry International*. 2015;83–84:1–8.
63. Stanojlović M, Guševac I, Grković I, Mitrović N, Zlatković J, Horvat A, et al. Repeated Estradiol Treatment Attenuates Chronic Cerebral Hypoperfusion-Induced Neurodegeneration in Rat Hippocampus. *Cell Mol Neurobiol*. 2016;36(6):989–99.
64. Zarić M, Drakulić D, Dragić M, Guševac Stojanović I, Mitrović N, Grković I, et al. Molecular Alterations and Effects of Acute Dehydroepiandrosterone Treatment Following Brief Bilateral Common Carotid Artery Occlusion: Relevance to Transient Ischemic Attack. *Neuroscience*. 2019;410:128–39.
65. Zarić M, Drakulić D, Stojanović IG, Mitrović N, Grković I, Martinović J. Regional-Specific Effects of Cerebral Ischemia/Reperfusion and Dehydroepiandrosterone on Synaptic NMDAR/PSD-95 Complex in Male Wistar rats. *Brain Research*. 2018;1688:73–80.
66. Arbo BD, Ribeiro FS, Ribeiro MF. Astrocyte Neuroprotection and Dehydroepiandrosterone. *Vitamins and Hormones* 2018;108:175–203.
67. Guennoun R. Progesterone in the Brain: Hormone, Neurosteroid and Neuroprotectant. *IJMS*. 2020;21(15):5271.
68. Siddiqui AN, Siddiqui N, Khan RA, Kalam A, Jabir NR, Kamal MA, et al. Neuroprotective Role of Steroidal Sex Hormones: An Overview. *CNS Neurosci Ther*. 2016;22(5):342–50.
69. Murugan S, Jakka P, Namani S, Mujumdar V, Radhakrishnan G. The Neurosteroid Pregnenolone Promotes Degradation of Key Proteins in the Innate Immune Signaling to Suppress Inflammation. *Journal of Biological Chemistry*. 2019;294(12):4596–607.
70. Bahnasy WS, El-Heneedy YA, El-Seidy EA. Sex Hormones and Alzheimer's Disease. *Endocr Rev*. 2018;41:273–319.
71. Stein DG. Progesterone Exerts Neuroprotective Effects After Brain Injury. *Brain Research Reviews*. 2008;57(2):386–97.



72. Tatiana Z. Gonadal Sex Steroids: Production, Action and Interactions in Mammals. Steroids - From Physiology to Clinical Medicine. InTech; 2012.
73. Brinton RD, Thompson RF, Foy MR, Baudry M, Wang J, Finch CE, et al. Progesterone Receptors: Form and Function in Brain. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2008;29(2):313–39.
74. Garg D, Ng SSM, Baig KM, Driggers P, Segars J. Progesterone-Mediated Non-Classical Signaling. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2017;28(9):656–68.
75. Berent-Spillson A, Briceno E, Pinsky A, Simmen A, Persad CC, Zubieta JK, et al. Distinct Cognitive Effects of Estrogen and Progesterone in Menopausal Women. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;59:25–36.
76. Hagiwara A, Ogiwara K, Takahashi T. Expression of Membrane Progesterone Receptors (mPRs) in Granulosa Cells of Me-daka Preovulatory Follicles. *Zoological Science*. 2016;33(1):98–105.
77. Boonyaratanakornkit V, Scott MP, Ribon V, Sherman L, Anderson SM, Maller JL, et al. Progesterone Receptor Contains a Proline-Rich Motif that Directly Interacts with SH3 Domains and Activates c-Src Family Tyrosine Kinases. *Molecular Cell*. 2001;8(2):269–80.
78. Singh M, Su C. Progesterone and Neuroprotection. *Hormones and Behavior*. 2013;63(2):284–90.
79. Chen A, Xiong LJ, Tong Y, Mao M. The Neuroprotective Roles of BDNF in Hypoxic Ischemic Brain Injury. *Biomedical Reports*. 2013;1(2):167–76.
80. Stein DG, Wright DW, Kellermann AL. Does Progesterone Have Neuroprotective Properties? *Annals of Emergency Medicine*. 2008;51(2):164–72.
81. Roof RL, Hoffman SW, Stein DG. Progesterone Protects Against Lipid Peroxidation Following Traumatic Brain Injury in Rats. *Molecular and Chemical Neuropathology*. 1997;31(1):1–11.
82. Subramaniam S, Unsicker K. ERK and Cell Death: ERK1/2 in Neuronal Death: ERK1/2 in Neuronal Death. *FEBS Journal*. 2010;277(1):22–9.
83. Goodman Y, Bruce AJ, Cheng B, Mattson MP. Estrogens Attenuate and Corticosterone Exacerbates Excitotoxicity, Oxidative Injury, and Amyloid  $\beta$ -Peptide Toxicity in Hippocampal Neurons. *Journal of Neurochemistry*. 2002;66(5):1836–44.
84. Vedder H, Anthes N, Stumm G, Würz C, Behl C, Krieg JC. Estrogen Hormones Reduce Lipid Peroxidation in Cells and Tissues of the Central Nervous System. *Journal of Neurochemistry*. 2002;72(6):2531–8.
85. Subramaniam M, Pusphendran CK, Tarachand U, Devasagayam TPA. Gestation Confers Temporary Resistance to Peroxidation in the Maternal Rat Brain. *Neuroscience Letters*. 1993;155(2):151–4.
86. Chao TC, Alten PJV, Walter RJ. Steroid Sex Hormones and Macrophage Function: Modulation of Reactive Oxygen Intermediates and Nitrite Release. *American Journal of Reproductive Immunology*. 1994;32(1):43–52.
87. Pettus EH, Wright DW, Stein DG, Hoffman SW. Progesterone Treatment Inhibits the Inflammatory Agents that Accompany Traumatic Brain Injury. *Brain Research*. 2005;1049(1):112–9.
88. Djebaili M, Hoffman SW, Stein DG. Allopregnanolone and Progesterone Decrease Cell Death and Cognitive Deficits After a Contusion of the Rat Pre-Frontal Cortex. *Neuroscience*. 2004;123(2):349–59.
89. Nilsen J, Brinton RD. Impact of Progestins on Estradiol Potentiation of the Glutamate Calcium Response: *Neuroreport*. 2002;13(6):825–30.
90. Djebaili M, Guo Q, Pettus EH, Hoffman SW, Stein DG. The Neurosteroids Progesterone and Allopregnanolone Reduce Cell Death, Gliosis, and Functional Deficits after Traumatic Brain Injury in Rats. *Journal of Neurotrauma*. 2005;22(1):106–18.
91. Ghoumari AM, Ibanez C, El-Etr M, Leclerc P, Eychenne B, O'Malley BW, et al. Progesterone and its Metabolites Increase Myelin Basic Protein Expression in Organotypic Slice Cultures of Rat Cerebellum: Progesterone and CNS Myelination. *Journal of Neurochemistry*. 2003;86(4):848–59.
92. Ishrat T, Sayeed I, Atif F, Hua F, Stein DG. Progesterone and Allopregnanolone Attenuate Blood–Brain Barrier Dysfunction Following Permanent Focal Ischemia by Regulating the Expression of Matrix Metalloproteinases. *Experimental Neurology*. 2010;226(1):183–90.
93. He J, Hoffman SW, Stein DG. Allopregnanolone, a Progesterone Metabolite, Enhances Behavioral Recovery and Decreases Neuronal Loss After Traumatic Brain Injury. *Restor Neurol Neurosci*. 2004;22(1):19–31.
94. Pajović S, Saičić ZS, Spasić MB, Petrović VM, Martinović JV. Effects of Progesterone and Estradiol Benzoate on Superoxide Dismutase Activity in the Brain of Male Rats. *Experientia*. 1996;52(3):221–4.

95. Yu P, Li S, Zhang Z, Wen X, Quan W, Tian Q, et al. Progesterone-Mediated Angiogenic Activity of Endothelial Progenitor Cell and Angiogenesis in Traumatic Brain Injury Rats Were Antagonized by Progesterone Receptor Antagonist. *Cell Prolif.* 2017;50(5):e12362.
96. Li Z, Wang B, Kan Z, Zhang B, Yang Z, Chen J, et al. Progesterone Increases Circulating Endothelial Progenitor Cells and Induces Neural Regeneration after Traumatic Brain Injury in Aged Rats. *Journal of Neurotrauma.* 2012;29(2):343–53.
97. Cooke PS, Nanjappa MK, Yang Z, Wang KKW. Therapeutic Effects of Progesterone and its Metabolites in Taumatic Brain Injury May Involve Non-Classical Signaling Mechanisms. *Front Neurosci.* 2013;7:108.
98. Gibson CL, Murphy SP. Progesterone Enhances Functional Recovery after Middle Cerebral Artery Occlusion in Male Mice. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2004;24(7):805–13.
99. Kumon Y, Kim SC, Tompkins P, Stevens A, Sakaki S, Loftus CM. Neuroprotective Effect of Postischemic Administration of Progesterone in Spontaneously Hypertensive Rats with Focal Cerebral Ischemia. *Journal of Neurosurgery.* 2000;92(5):848–952.
100. Morali G, Letechipía-Vallejo G, López-Loeza E, Montes P, Hernández-Morales L, Cervantes M. Post-Ischemic Administration of Progesterone in Rats Exerts Neuroprotective Effects on the Hippocampus. *Neuroscience Letters.* 2005;382(3):286–90.
101. Cervantes M, González-Vidal MD, Ruelas R, Escobar A, Morali G. Neuroprotective Effects of Progesterone on Damage Elicited by Acute Global Cerebral Ischemia in Neurons of the Caudate Nucleus. *Archives of Medical Research.* 2002;33(1):6–14.
102. Zhu X, Fréchou M, Liere P, Zhang S, Pianos A, Fernandez N, et al. A Role of Endogenous Progesterone in Stroke Cerebroprotection Revealed by the Neural-Specific Deletion of Its Intracellular Receptors. *J Neurosci.* 2017;37(45):10998–1020.
103. Zhu X, Fréchou M, Schumacher M, Guennoun R. Cerebroprotection by Progesterone Following Ischemic Stroke: Multiple Effects and Role of the Neural Progesterone Receptors. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2019;185:90–102.
104. Liu A, Margail I, Zhang S, Labombarda F, Coqueran B, Delespierre B, et al. Progesterone Receptors: A Key for Neuroprotection in Experimental Stroke. *Endocrinology.* 2012;153(8):3747–57.
105. Cai W, Zhu Y, Furuya K, Li Z, Sokabe M, Chen L. Two Different Molecular Mechanisms Underlying Progesterone Neuroprotection Against Ischemic Brain Damage. *Neuropharmacology.* 2008;55(2):127–38.
106. Carroll JC, Rosario ER, Chang L, Stanczyk FZ, Oddo S, LaFerla FM, et al. Progesterone and Estrogen Regulate Alzheimer-Like Neuropathology in Female 3xTg-AD Mice. *Journal of Neuroscience.* 2007;27(48):13357–65.
107. Chen S, Wang JM, Irwin RW, Yao J, Liu L, Brinton RD. Allopregnanolone Promotes Regeneration and Reduces  $\beta$ -Amyloid Burden in a Preclinical Model of Alzheimer's Disease. *PLoS ONE.* 2011;6(8):e24293.
108. Wang T, Yao J, Chen S, Mao Z, Brinton RD. Allopregnanolone Reverses Bioenergetic Deficits in Female Triple Transgenic Alzheimer's Mouse Model. *Neurotherapeutics.* 2020;17(1):178–88.
109. Irwin RW, Brinton RD. Allopregnanolone as Regenerative Therapeutic for Alzheimer's Disease: Translational Development and Clinical Promise. *Progress in Neurobiology.* 2014;113:40–55.
110. Irwin RW, Wang JM, Chen S, Brinton RD. Neuroregenerative Mechanisms of Allopregnanolone in Alzheimer's Disease. *Front Endocrin.* 2012;3:117.
111. De Nicola AF, Garay LI, Meyer M, Guennoun R, Sitruk-Ware R, Schumacher M, et al. Neurosteroidogenesis and Progesterone Anti-Inflammatory/Neuroprotective Effects. *J Neuroendocrinol.* 2018;30(2):e12502.
112. Gonzalez Deniselle MC, Garay L, Gonzalez S, Guennoun R, Schumacher M, De Nicola AF. Progesterone Restores Retrograde Labeling of Cervical Motoneurons in Wobbler mouse Motoneuron Disease. *Experimental Neurology.* 2005;195(2):518–23.
113. Labombarda F, Gonzalez S, Deniselle MCG, Garay L, Guennoun R, Schumacher M, et al. Progesterone Increases the Expression of Myelin Basic Protein and the Number of Cells Showing NG 2 Immunostaining in the Lesioned Spinal Cord. *Journal of Neurotrauma.* 2006;23(2):181–92.
114. Schumacher M, Guennoun R, Robert F, Carelli C, Gago N, Ghoumari A, et al. Local Synthesis and Dual Actions of Progesterone in the Nervous System: Neuroprotection and Myelination. *Growth Hormone & IGF Research.* 2004;14:18–33.

115. Ye JN, Chen XS, Su L, Liu YL, Cai QY, Zhan XL, et al. Progesterone Alleviates Neural Behavioral Deficits and Demyelination with Reduced Degeneration of Oligodendroglial Cells in Cuprizone-Induced Mice. *PLoS ONE*. 2013;8(1):e54590.
116. El-Etr M, Rame M, Boucher C, Ghoumari AbdelM, Kumar N, Liere P, et al. Progesterone and Nestorone Promote Myelin Regeneration in Chronic Demyelinating Lesions of Corpus Callosum and Cerebral Cortex: Progesterone Receptor and Myelin Repair. *Glia*. 2015;63(1):104–17.
117. Aryanpour R, Pasbakhsh P, Zibara K, Namjoo Z, Beigi Boroujeni F, Shahbeigi S, et al. Progesterone Therapy Induces an M1 to M2 Switch In microglia Phenotype and Suppresses NLRP3 Inflammasome in a Cuprizone-Induced Demyelination Mouse Model. *International Immunopharmacology*. 2017;51:131–9.
118. Garay L, Gonzalez Deniselle MC, Sitruk-Ware R, Guennoun R, Schumacher M, De Nicola AF. Efficacy of the Selective Progesterone Receptor Agonist Nestorone for Chronic Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Journal of Neuroimmunology*. 2014;276(1–2):89–97.
119. Noorbakhsh F, Baker GB, Power C. Allopregnanolone and Neuroinflammation: a Focus on Multiple Sclerosis. *Front Cell Neurosci*. 2014;8.
120. Stein DG. Embracing failure: What the Phase III Progesterone Studies Can Teach About TBI Clinical Trials. *Brain Injury*. 2015;29(11):1259–72.





## **IMPRESUM**

### **Trendovi u molekularnoj biologiji, 2022.**

Izdavač

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

Urednik

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

Uređivački odbor

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

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

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

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

Recenzenti

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

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

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

Dizajn i izrada korica

**Ivan Strahinić**

Štampa

**Curent Print**, Beograd

Periodičnost izlaženja publikacije

**Godišnje**

Tiraž

**100 primeraka**

**Autori**

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

CIP - Каталогизacija u publikaciji  
Nародна библиотека Србије, Београд

577.2

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

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