

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 započetu 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**

## Uloga dehidroepiandrosterona u moždanoj ishemiji/reperfuziji

**Marina Zarić Kontić, Jelena Martinović**

Laboratorija za molekularnu biologiju i endokrinologiju,  
VINČA Institut za nuklearne nauke – Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju,  
Univerzitet u Beogradu  
Kontakt: marinazaric@vin.bg.ac.rs

### Apstrakt

Moždana ishemija/reperfuzija (I/R), redukovan i ponovno uspostavljen protok krvi kroz mozak, predstavlja karakteristiku cerebro-vaskularnih oboljenja kao što su moždani udar i tranzitorni ishemijski atak. Izučavanje I/R na životinjskim modelima značajno je za razumevanje same patogeneze i potencijalnih terapeutika među kojima je svoje mesto našao i neurosteroid dehidroepiandrosteron (DHEA). DHEA može ostvarivati svoje neurobiološko dejstvo direktno vezivanjem za različite receptore ili indirektno putem metabolita ili intermedijera metaboličkog puta. Mnogobrojne studije su pokazale njegov neuroprotektivan učinak u različitim patologijama centralnog nervnog sistema među kojima je svoje mesto zauzela i moždana I/R. U ovom radu osvrnućemo se na direktno delovanje DHEA u tretmanu ishemičnih stanja pružajući uvid u različite efekte koji su do sada pokazani u životinjskim modelima I/R kao i potencijalni značaj u modernoj medicini.

**Ključne reči:** moždana ishemija/reperfuzija, dehidroepiandrosteron, neuroprotekcija, neurodegeneracija

## Effect of dehydroepiandrosterone on cerebral ischemia/reperfusion

**Marina Zarić Kontić, Jelena Martinović**

Department of Molecular Biology and Endocrinology,  
VINČA Institute of Nuclear Sciences - National Institute of the Republic of Serbia,  
University of Belgrade, Belgrade, Serbia

Correspondence: marinazaric@vin.bg.ac.rs

### Abstract

Cerebral ischemia/reperfusion (I/R), reduced and re-established blood flow through the brain, represents characteristic of cerebrovascular diseases such as stroke and transient ischemic attack. I/R animal models enable understanding the pathogenesis itself as well as potential therapeutics, among which the neurosteroid dehydroepiandrosterone (DHEA) has found its place. DHEA can exert its neurobiological action directly by binding to various receptors or indirectly through metabolites or metabolic pathway intermediates. Numerous studies have shown its neuroprotective effect in various pathologies of the central nervous system, among which the cerebral I/R has taken its place. In this paper, we will focus on the direct actions of DHEA in the treatment of ischemic conditions, providing insight into the various effects shown so far in animal I/R models as well as potential significance in modern medicine.

**Keywords:** cerebral ischemia/reperfusion, dehydroepiandrosterone, neuroprotection, neurodegeneration



## MOŽDANA ISHEMIJA/REPERFUZIJA

Moždana ishemija/reperfuzija (I/R) nastaje usled smanjenja protoka krvi kroz mozak i njegovog ponovnog uspostavljanja. Uzroci nastanka I/R su mnogobrojni, a najčešće podrazumevaju suženje krvnog suda ili njegovo zakrčenje trombom ili embolusom. I/R se može javiti i kao posledica srčanog zastoja ili nepravilnosti rada srca, poremećaja disanja, nakon (zlo)upotrebe određenih lekova, hirurških intervencija, ali i kao sekundarna komplikacija drugih oboljenja [1, 2]. Moždana I/R predstavlja karakteristiku cerebro-vaskularnih oboljenja kao što su moždani udar (MU) i tranzitorni ishemijski atak (TIA).

Moždani udar osim visokog stepena mortaliteta, odgovoran je i za najveći stepen invaliditeta u odnosu na sve druge neurološke bolesti, te stoga predstavlja ne samo medicinski već i značajni socio-ekonomski problem [2]. Na osnovu uzroka nastanka moguće je izvršiti podelu na ishemijski moždani udar (IMU), koji nastaje usled okluzije krvnog suda trombom ili embolusom, i hemoragijski moždani udar (HMU), koji se može javiti u obliku unutar-moždanog ili krvarenja u likvorne prostore i dosta se ređe javlja u odnosu na IMU [2]. U zavisnosti od regiona koji je pogođen udarom, oba tipa MU karakterišu simptomi kao što su hemipareza, gubitak senzibiliteta, prostorni neglect, homonimna hemianopsija, poremećaj konjugovanog pogleda, ataksija, dizartrija, disfagija i drugi [3].

Tranzitorni ishemijski atak predstavlja kratku epizodu neurološke disfunkcije uzrokovane fokalnom ishemijom mozga, kičmene moždine ili retine, nakon koje se neuro-vizuelizacionim metodama ne detektuje prisustvo akutnog infarkta u mozgu [4]. Takođe, kod pacijenata sa okluzijom jedne ili obe zajedničke karotidne arterije može doći do pojave TIA [5, 6]. Uobičajeno simptomi traju vrlo kratko, najčešće do 15 min, i podrazumevaju slabost ekstremiteta na jednoj strani tela, senzorne deficite, vizuelne i govorne smetnje, nestabilnost i poteškoće u hodu [7]. Dodatno, klinička slika može biti praćena padom kognitivnih funkcija i/ili atrofijom mozga što može ukazati na trajno oštećenje [8]. U većini slučajeva TIA nastupa naglo, uglavnom bez provokacija, vrlo često prethodi IMU i povećava rizik od nastanka novog napada, ili niza istih [9].

### Životinjski modeli moždane ishemije/(reperfuzije)

Izučavanje moždane I/R na životinjskim modelima značajno je za razumevanje njihove patogeneze i potencijalnih terapeutika. Kao životinjski modeli moždane I/R najčešće se koriste inbredovani sojevi pacova, s obzirom na anatomsku i fiziološku sličnost sa čovekom, veliku genetičku homogenost unutar određenog soja, laku eksperimentalnu manipulaciju i ekonomičnost u finansijskom pogledu [10, 11]. Eksperimentalni dizajn koji podrazumeva opstrukciju krvnog suda/ sudova bez ponovnog uspostavljanja moždane cirkulacije (izostanak reperfuzione povrede) predstavlja hroničnu hipoperfuziju, koja je karakteristika prirodnog procesa starenja, ali može biti i jedan od uzročnika neuropatoloških stanja, kao što su različiti tipovi demencija i Alchajmerova bolest. Ukoliko se nakon okluzije krvnog suda/sudova posle određenog vremenskog perioda dopusti uspostavljanje krvotoka dolazi do pojave reperfuzione povrede. Ovakvi I/R modeli koriste se za proučavanje stanja kao što su privremeni zastoj srca, MU, TIA i drugi [12]. Stoga, u zavisnosti od cilja istraživanja, životinjski modeli ishemije mogu biti trajni (hronična hipoperfuzija određene razmere) ili privremeni („pravi“ — I/R modeli).

#### *Fokalna moždana ishemija/(reperfuzija) i životinjski modeli*

Fokalna moždana ishemija nastaje usled drastičnog smanjenja protoka krvi u određenom regionu mozga i obično se javlja kao posledica začepljenja moždanih krvnih sudova često izazivajući nastanak MU ili TIA. U tkivu zahvaćenom fokalnom moždanom ishemijom uočavaju se dva regiona - ishemijsko jezgro i

region oko njega označen kao senka (lat. *penumbra*). Jezgro je region direktno pogođen ishemijom i predstavlja centar oštećenja, dok region senke biva posredno zahvaćen ishemijom, te u njemu promene nisu tako drastične kao u samom jezgru. U ovoj oblasti ćelije nemaju sposobnost provođenja akcionog potencijala, ali su i dalje metabolički aktivne i vijabilne. One u narednim satima primaju štetne signale iz mrtvih ćelija jezgra i ukoliko pro-apoptotski signali preovladaju, ove ćelije nestaju za nekoliko dana programiranim tipom ćelijske smrti, kao što su apoptoza i autofagocitoza [13], što dodatno pogoršava oštećenje izazvano ishemijom kao i klinički ishod [14, 15].

Najveći broj studija fokalne moždane ishemije koristi model okluzije srednje moždane arterije (engl. *middle cerebral artery occlusion*- MCAO) koja se može postići uvođenjem monofilamenta [11, 16], elektrokauterizacijom ili fotohemijski primenom fotosenzitivne boje koja pobuđena laserom oštećuje endotelne ćelije i dovodi do agregacije trombocita i formiranja tromba [11, 17]. Za ispitivanje potencijalnih trombolitika koriste se životinjski modeli kod kojih se fokalna ishemija postiže ubacivanjem krvnog ugruška ili specifične supstance/mikrosfere direktno u krvni sud [11, 17]. Još jedan od modela podrazumeva stereotaktički navođeno injeciranje endotelina-1 koji poseduje potentno vazokonstriktivno dejstvo, te se na minimalno invazivni način postiže okluzija ciljanog krvnog suda [17]. Postavljanje hiruških mini- klipsi na željeni krvni sud može poslužiti kao još jedna od tehnika za kreiranje fokalne I/R [18, 19].

#### *Potpuna/nepotpuna globalna ishemija/(reperfuzija) i životinjski modeli*

Do stanja potpune globalne moždane ishemije kod ljudi dolazi prilikom potpunog zastoja u radu srca ili prilikom fizičkog stezanja vrata te stoga postoji mali broj modela koji simuliraju ovo stanje. Ranije primenjivani modeli potpune globalne ishemije kao što su dekapitacija [20] i mehaničko stezanje vrata [21] se iz etičkih razloga danas ne upotrebljavaju. Jedan od načina za uspešno uspostavljanje stanja kompletne globalne ishemije predstavlja ventrikularna fibrilacija pri čemu se uglavnom koriste veći sisari, dok se pacovi i miševi retko koriste [22]. Najkorišćeniji model za izučavanja potpune globalne moždane ishemije je takozvani 4-VO (engl. *four-vessel occlusion*) model koji podrazumeva okluziju leve i desne zajedničke karotidne arterije i obe vertebralne arterije [23]. Nakon 4-VO modela, osmišljen je 2-VO (engl. *two-vessel occlusion*) model u kome eksperimentalna životinja biva podvrgnuta okluziji obe zajedničke karotidne arterije dok vertebralne arterije ostaju intaktne, te se na njemu može proučavati nekompletna globalna ishemija [24-26]. Ostrukcija karotidnih arterija se može postići podvezivanjem ili elektrokauterizacijom [11, 19].

#### **Molekulske promene koje karakterišu moždanu I/R – ishemično oštećenje i reperfuziona povreda**

Prilikom smanjenja moždane cirkulacije dolazi do različitih ishemičnih promena u moždanom tkivu, koje mogu biti praćene smrću neurona ukoliko je prisutna izraženija redukcija protoka krvi odnosno duže trajanje ishemije [27]. Faza ishemije nije jedini, a ni najvažniji faktor koji uzrokuje oštećenje moždanog tkiva. Iako uspostavljanje protoka krvi omogućava ponovno snabdevanje hranljivim materijama i kiseonikom, ono može dovesti i do „reperfuzione povrede“ koja značajno doprinosi oštećenju [28, 29]. Kao posledica dva navedena procesa javljaju se patofiziološke promene u ćelijama kao što su: smanjena proizvodnja adenozin trifosfata (ATP) [28]; povećanje unutarćelijske koncentracije  $Ca^{2+}$  [30, 31]; formiranje reaktivnih vrsta kiseonika (engl. *reactive oxygen species*, ROS) i azota (engl. *reactive nitrogen species*, RNS), praćeno pojavom oksidativnog i nitrozativnog stresa [32]; zapaljenski procesi [33]; modulacija sastava i funkcije receptora [34]; neurotoksičnost posredovana glutamatom i dopaminom [31]; modulacija pro-/anti- apoptotskih proteina i narušena funkcija mitohondrija [35]. Neki od najznačajnijih navedenih procesa će u nastavku biti detaljnije opisani.

### *Reaktivne oksidativne vrste i lipidna peroksidacija kao uzrok oštećenja tokom i nakon moždane ishemije/reperfuzije*

U fiziološkim uslovima kada su koncentracije niske, ROS imaju značajnu ulogu u regulaciji funkcije imunskog sistema i održavanju redoks homeostaze, te predstavljaju neizostavne komponente i sekundarne glasnike mnogih signalnih puteva [36]. Kada koncentracija ROS u moždanom tkivu poraste iznad fiziološke vrednosti, uklanjanje prekomerno proizvedenih vrsta ključno je za održavanje homeostaze i sprečavanje oksidativnih oštećenja u ćeliji. Optimalan nivo ROS održavaju superoksid dismutaza (SOD), glutation peroksidaza (GPx), katalaza i drugi antioksidativni enzimi (AOE), štiteći tako moždano tkivo od oštećenja [37, 38]. Tokom i nakon I/R (posebno tokom faze reperfuzije), proizvodnja ROS značajno se povećava, te komponente antioksidativne zaštite postaju kompromitovane i AOE ne uspevaju da neutrališu nastale ROS [37]. U ishemijskoj fazi, ROS se uglavnom proizvode u mitohondrijama, usled narušavanja njihove aktivnosti i funkcije [39]. U fazi reperfuzije imunske ćelije stižu u region pogođen povredom, te dolazi do pokretanja neuroinflammatornog odgovora, aktivacije NADPH oksidaze i reakcije oksidativnog praska što dodatno doprinosi stvaranju ROS [37, 40].

Dobro je poznato da oksidativni stres može da aktivira apoptotsku signalnu kaskadu, kao i da uzrokuje strukturne promene proteina i lipidnu peroksidaciju [41, 42] utičući time na različite signalne puteve u ćeliji. ROS može učestvovati u pokretanju ćelijske smrti izazvanjem oštećenja na molekulu DNK [43], aktiviranjem proteina p53 što rezultuje otvaranjem mitohondrijskih pora i potonjim kolapsom [44, 45]. ROS takođe utiču na otpuštanje citohroma C iz mitohondrija i aktivaciju nishodnih kaspaza [44].

Oksidativna oštećenja i modulacija biomolekula mogu direktno uticati na regulaciju različitih signalnih puteva [37, 46, 47]. Izuzetno je značajno naglasiti da oksidativni stres dovodi do značajnih promena u propustljivosti membrane, transportu jona i funkciji organela procesom lipidne peroksidacije [48]. Povećanje štetnih proizvoda lipidne peroksidacije, kao i promene sistema redukovani/oksidovani glutation (GSH, GSSG) predstavljaju značajne faktore oštećenja prilikom I/R [37, 49]. Tokom I/R koncentracija slobodnih masnih kiselina, pre svega arahidonske kiseline, značajno se povećava. Fosfolipaze A2 i C, aktivirane povećanjem  $Ca^{2+}$ , hidrolizuju fosfolipide, dok resinteza istih zahteva očuvan energetske status, odnosno prisustvo ATP. Stoga, povećanje unutarćelijskog  $Ca^{2+}$  i poremećen energetske status, podstiču nastanak slobodnih masnih kiselina i oštećenje membrane [50]. Dodatno, usled narušenog oksidativnog statusa dolazi do povećanog formiranja ROS koji reaguju sa nezasićenim masnim kiselinama proizvodeći alkil radikal, koji može formirati peroksil radikal čijom se redukcijom dalje formiraju lipidni hidroperoksidi i drugi alkil radikali i propagira ciklus lipidne peroksidacije. Pored navedenih direktnih štetnih delovanja, krajnji proizvodi lipidne peroksidacije poput malondialdehida (MDA), 4-hidroksinonenala i akroleina mogu uzrokovati disfunkciju proteina vezivanjem za tiolne grupe kao i smanjenje GSH kroz reakciju sa GPx i glutation S-transferazom (GST), proizvodeći na taj način još ozbiljnija oštećenja [37]. Postishemični pad nivoa GSH i smanjena aktivnost GPx i GR su dobro okarakterisani u mnogobrojnim studijama [32, 37].

### *Uloga reaktivnih nitrozativnih vrsta u molekulskim promenama koje karakterišu moždanu ishemiju/reperfuziju – efekat azot oksida*

U fiziološkim uslovima, NO reguliše niz parametara neophodnih za održavanje homeosteze centralnog nervnog sistema (CNS) kao što su protok krvi i tonus krvnih sudova, neurotransmisija, sinaptička plastičnost i sinaptogeneza [47, 51]. Tokom I/R nivo NO raste, a uloga koju tom prilikom ostvaruje može biti dvojaka, u zavisnosti od količine NO u tkivu, izoforme enzima koji je uključen u njegovu sintezu i trenutnog mikrokruženja. U mozgu pacova i čoveka, NO nastaje reakcijom hidroksilacije L-arginina u prisustvu ki-

seonika, gde funkciju katalizatora mogu vršiti tri tipa enzima: neuronalne azot oksid sintaze (engl. *neuronal nitric oxide synthase*, nNOS), endotelne azot oksid sintaze (engl. *endothelial nitric oxide synthase*, eNOS) i inducibilne azot oksid sintaze (engl. *inducible nitric oxide synthase*, iNOS) [52]. Generalno, NO nastao delovanjem eNOS uglavnom je označen kao neuroprotektivan, dok nNOS i iNOS ostvaruju neurotoksičan efekat kako u ranoj tako i u kasnoj fazi I/R [53]. Povećan nivo NO direktno inhibira kompleks IV (citohrom C oksidaza) mitohondrijskog respiratornog lanca ugrožavajući proces oksidativne fosforilacije i vijabilnost ćelije [54]. Tokom i nakon I/R dolazi do pokretanja neuroinflamacije i naglog skoka NO što dovodi do aktivacije metaloproteinaza vanćelijskog matriksa koje vrše isecanje različitih komponenti matriksa kompromitujući strukturu i stabilnost krvno-moždane barijere (KMB) [55]. NO takođe utiče na aktivaciju ciklooksigenaze-2 i povećanje produkcije prostaglandina E2 povećavajući na taj način neuroinflamatorni odgovor tokom I/R [56]. Dodatno, NO dovodi do nitrozilacije proteina ćelije i narušavanja njihove biološke funkcije. NO služi kao izvor niza RNS prevashodno peroksinitrita (ONOO<sup>-</sup>), azot (IV)- oksida (NO<sub>2</sub>) i azot (III)- oksida (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) te dovodi do nastanka nitrozativnog stresa [57]. RNS mogu izazvati slična oštećenja kao i povećan nivo NO, a to su: nitracija i nitrozilacija proteina praćena gubitkom biološke funkcije, oštećenja na molekulu DNK, narušavanje KMB, povećanje lipidne peroksidacije, inhibicija kompleksa mitohondrijskog respiratornog lanca i drugo [37].

#### *Signalni put NMDA receptorskog kompleksa u moždanoj ishemiji/reperfuziji*

Ograničeni protok krvi tokom faze ishemije dovodi i do narušavanja jonske homeostaze [58] što rezultuje depolarizacijom neurona usled čega dolazi do povećanog oslobađanja ekscitatornih neurotransmitera (prevashodno glutamata) u sinaptički prostor. Istovremeno, gubitak energije izazvan ishemijom narušava funkciju transportera za preuzimanje glutamata, te dolazi do preteranog nakupljanja glutamata u sinaptičkoj pukotini i prekomerne aktivacije glutamatnih receptora na postsinaptičkim neuronima [31]. Do danas su okarakterisana tri tipa jonotropnih receptora za glutamat i imenovana prema nazivima sintetičkih agonista pomoću kojih su otkriveni: a) receptori osetljivi na N-metil-D-aspartatsku kiselinu (NMDARs); b) receptori osetljivi na α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionsku kiselinu (AMPARs); c) receptori osetljivi na kainičnu kiselinu. NMDARs predstavljaju podklasu jonotropnih glutamatnih receptora neophodnih za održavanje niza neuroloških funkcija, uključujući sinaptičku plastičnost, formiranje memorijskih zapisa, pravilan razvoj mozga i preživljavanje neurona u fiziološkim uslovima. Funkcionalni NMDARs su heterotetramerni kompleksi sačinjeni od dve konstitutivno ekspimirane NR1 i najmanje jedne subjedinice tipa NR2 (A-D) ili NR3 (A-B) [59]. Signalni kompleks sačinjen od NR2B subjedinice NMDARs, post-sinaptičkog proteina 95 (engl. *postsynaptic density protein 95*, PSD-95) i nNOS predstavlja jedan od najranije okarakterisanih signalnih kompleksa koji učestvuju u oštećenju i smrti neurona tokom i nakon I/R [19, 30]. PSD-95 je sinaptički protein koji ukotvljava i stabilizuje NMDARs u membrani i privlači različite signalne molekule u neposrednu blizinu unutarćelijske pore kanala receptora. PSD-95 pomoću svojih protein vezujućih domena omogućava dopremanje nNOS u blizinu pore kanala NMDARs i njegovo izlaganje ulaznoj struji Ca<sup>2+</sup>. Koncentracija Ca<sup>2+</sup> i blizina kompleksa Ca<sup>2+</sup>/kalmodulin dovode do konformacione promene nNOS čime se postiže uklanjanje autoinhibitornog elementa i aktivacija enzima. nNOS dalje učestvuje u signalnoj transdukciji posredno preko produkcije NO ili neposredno ostvarujući fizičku interakciju sa drugim adapterskim proteinom CAPON (engl. *C-Terminal PDZ Domain Ligand Of Neuronal Nitric Oxide Synthase*) koji se vezuje za protein GTPazu Dexas1 (engl. *dexamethasone-induced Ras-related protein 1*) i omogućava njenu aktivaciju. Literaturni podaci pokazuju da aktivacija kompleksa nNOS/CAPON/Dexas 1 ima značajnu ulogu u NMDARs posredovanoj neurotoksičnosti i oštećenju ćelije [52, 53].

### Značaj odnosa pro- i anti-apoptotskih članova Bcl-2 familije u moždanoj ishemiji/reperfuziji

Apoptoza ili „programirana ćelijska smrt“ je proces kojim se uz aktivni utrošak energije i sintezu specifičnih proteina pokreće smrt ćelije kao sastavni deo fizioloških procesa ili kao odgovor na određena patološka stanja [60]. Razlikuju se dva signalna puta pokretanja apoptoze - spoljašnji i unutrašnji. Spoljašnji put se pokreće vezivanjem specifičnih vanćelijskih liganda za receptore smrti, dok se unutrašnji put aktivira unutarćelijskim signalima. Bez obzira na poreklo signala, pro-apoptotski signalni put dovodi do aktivacije proteolitičkih enzima kaspaza koji katalizuju isecanje i uništavanje velikog broja različitih proteina u ćeliji [61].

Unutrašnji „mitohondrijski put“ može biti pokrenut delovanjem različitih faktora poput radijacije, hipoksije, hipertermije, infekcije, hiperprodukcije ROS/RNS, kao i gubitkom faktora koji sprečavaju procese apoptoze [62]. Ovaj signalni put označen je kao „Bcl-2 kontrolisani put“ jer se njegova regulacija odvija posredstvom članova porodice proteina Bcl-2. Odnos pro- i anti-apoptotskih članova Bcl-2 familije u mitohondrijama i njihovoj neposrednoj blizini određuje sudbinu ćelije [45, 63]. U odgovoru na pro-apoptotske signale anti-apoptotski protein Bcl-2 (engl. *B-cell lymphoma 2*) sprečava pokretanje apoptoze regulisanjem oslobađanja citohroma C i drugih proteina iz mitohondrija tako što: a) sprečava premeštanje proteina Bax (engl. *Bcl-2-associated protein X*) i drugih pro-apoptotskih molekula iz citosola; b) sprečava Bax (engl. *Bcl-2-associated protein X*) / Bak (engl. *Bcl-2 homologous antagonist killer*) oligomerizaciju u MM; c) favorizuje zatvaranje prolazne mitohondrijske pore. Promena odnosa Bax/Bcl-2 u blizini MM u korist pro-apoptotskog Bax može dalje rezultovati propagacijom apoptotske signalne kaskade koja uključuje formiranje kompleksa apoptozoma i aktivaciju efektorskih kaspaza, kao i DNK endonukleaza koje vrše fragmentaciju DNK molekula i njegova nepovratna oštećenja. Promene nivoa Bax i Bcl-2, kao i povećan odnos Bax/Bcl-2 pokazani su u brojnim studijama na životinjskim I/R modelima [61].

### Potencijal mitohondrijske membrane i moždana ishemija/reperfuzija

Membranski potencijal mitohondrija (MPM) nastaje i održava se radom protonskih pumpi (kompleksi I, III i IV) koje ulaze u sastav mitohondrijskog respiratornog lanca. MPM održava se relativno stabilnim budući da je neophodan za očuvanje energetske homeostaze i preživljavanje ćelije, a dugotrajne promene dovode do gubitka vijabilnosti ćelije i leže u osnovi mnogih oboljenja [64]. Promene MPM okarakterisane su u određenim modelima I/R, gde finalnom gubitku funkcionalnosti mitohondrija prethode faze depolarizacije (ishemija) i hiperpolarizacije (reperfuzija) [29, 65].

### Neuroinflamacija tokom moždane ishemije/reperfuzije

Ranu fazu neuroinflamacije nakon moždane I/R, u zavisnosti od stepena ishemije odnosno reperfuzije, najčešće odlikuje aktivacija mikroglije i astrocita. Ovaj proces rezultuje stvaranjem glijalnog ožiljka koji može imati protektivnu ali i štetnu ulogu, sprečavajući reparaciju i regeneraciju moždanog tkiva nakon traume. Ovu fazu prati narušavanje strukturnog i funkcionalnog integriteta KMB i migracija leukocita sa periferije u oštećeni region mozga.

### Mikroglija i astrociti

Mikroglijske ćelije predstavljaju rezidentne imunokompetentne makrofage koji obavljaju ulogu svojevrsnog „kućepazitelja“ u CNS omogućavajući kontrolu mikrosredine i uklanjanje metaboličkih produkata [66]. Ove ćelije interaguju sa umirućim neuronima u ishemičnom jezgri i na taj način ih „obeležavaju“ za fagocitozu. Aktivirana mikroglija takođe sekretuje pro-inflamatorne supstance kao što su faktor nekroze tu-

mora  $\alpha$  (eng. *tumor necrosis factor  $\alpha$* , TNF- $\alpha$ ), interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), NO, različite ROS, ali i anti-apoptotske protektivne molekule poput transformišućeg faktora rasta  $\beta$ 1 (eng. *transforming growth factor  $\beta$ 1*, TGF $\beta$ 1), neurotrofičkog faktora poreklom iz mozga (eng. *brain derived neurotrophic factor*, BDNF) i insulinu- sličnog faktora rasta 1 (eng. *insulin-like growth factor 1*, IGF-1) [15, 67].

Pored ćelija mikroglije, tokom i nakon I/R se takođe aktiviraju i astrociti oslobađajući različite citokine, hemokine i NO [68]. U mozgu odraslog čoveka gotovo 40% od ukupnog broja svih ćelija čine astrociti koji obavljaju širok spektar kompleksnih fizioloških funkcija unutar CNS tako što obezbeđuju strukturnu podršku nervnim ćelijama, čine okruženje neurona, oslobađaju različite faktora rasta i pomažu u održavanju KMB [69].

### Migracija leukocita

Nekoliko sati nakon nastupanja ishemije, leukociti bivaju privučeni hemokinima produkovanim u ishemičnom regionu mozga i dospevaju u ekstravaskularna mesta infekcije vezujući se za adezivne molekule na endotelu. Migracija leukocita iz krvi predstavlja višefazni proces koji se sastoji od početnog slabog vezivanja za endotelne ćelije, čvrste adhezije i transmigracije kroz endotel krvnih sudova. Ukratko, citokini, prevashodno TNF- $\alpha$  i IL-1, deluju na endotelne ćelije malih krvnih sudova u ishemičnom regionu i stimulišu ih da brzo eksprimiraju adezivne molekule E i P selektin za koje se vezuju cirkulišući leukociti. Strujanje krvi kroz krvni sud raskida te veze, te se one kontinuirano uspostavljaju nishodno što se označava kao „kontroliranje“ leukocita po površini endotela. Za čvrsto vezivanje i zaustavljanje leukocita na krvnom sudu tj. transmigraciju iz lumena do ishemičnog regiona neophodni su hemokini, produkovani od strane mikroglije i endotela pod uticajem TNF- $\alpha$  i IL-1, kao i ekspresija  $\beta$ 2 integrina na površini leukocita. Na samom kraju ovog procesa citoskelet leukocita se izdužuje po površini endotela, a hemokini dodatno stimulišu njihovu pokretljivost i transmigraciju [70]. Infiltrirani leukociti oslobađaju citokine, hemokine, proteaze i ROS uzrokujući dalje oštećenje okolnog tkiva [71].

### Uloga T limfocita u neuroinflamaciji tokom ishemije

U akutnoj fazi I/R, naivni T limfociti luče interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) i učestvuju u produkciji ROS. T limfociti mogu imati i neuroprotektivnu ulogu budući da oštećeni neuroni, mikroglija i makrofagi lučeći TGF- $\beta$  promovišu razvoj regulatornih T limfocita koji oslobađajući interleukin-10 (IL-10) imaju pozitivan učinak u oporavku moždanog tkiva nakon ishemije. Iako se sa sigurnošću ne može tvrditi koja je i kolika uloga adaptivne imunosti u kliničkoj slici koja prati I/R, postoje podaci koji govore u prilog nastanka autoreaktivnih CD 4<sup>+</sup> i CD 8<sup>+</sup> ćelija nakon MU [72], što bi takođe moglo objasniti smrt neurona koja se dešava mnogo posle akutne faze MU.

### Završna faza neuroinflamacije i reparacija tkiva nakon ishemije/reperfuzije

Ovu fazu pre svega karakteriše otklanjanje neurona koji su podlegli ćelijskoj smrti. Mikroglija ima dominantnu ulogu u uklanjanju degenerisanih neurona koji oslobađaju takozvane „pronađi me“ signalne molekule kao što su ATP i uridin trifosfat (UTP) i „pojedi me“ signale kao što su uridin difosfat (UDP) i translokacija fosfatidil serina sa unutrašnjeg na spoljašnji monosloj ćelijske membrane. Tokom fagocitoze, mikroglija produkuje IL-10 i TGF- $\beta$  koji inhibiraju dalju inflamatornu kaskadu tako što suprimiraju prezentaciju antigena od strane dendritskih ćelija i aktiviraju regulatorne T ćelije koje vraćaju sistem u homeostazu. Finalnu strukturu glijalnog ožiljnog tkiva predominantno čine astrociti koji se dele i polako migriraju na mesto povrede gde popunjavaju upražnjen prostor [15, 55].

## DEHIDROEPIANDROSTERON

Dehidroepiandrosteron (DHEA) i njegov sulfatni estar dehidroepiandrosteron - sulfat (DHEAS) predstavljaju najzastupljenije steroidne hormone u ljudskom organizmu [73]. Nakon rođenja, nivo DHEA(S) opada i ostaje nizak sve do ulaska u pubertet nakon čega se aktivno sintetiše iz holesterola nizom biohemijskih reakcija i izlučuje iz retikularne zone kore nadbubrega, te nivo hormona počinje da raste naglo u cirkulaciji [74, 75]. Koncentracija u cirkulaciji je najviša u dvadesetim godinama, nakon čega postepeno opada kod oba pola, a između 65.-te do 70.-te godine života ove koncentracije postaju najmanje i iznose oko 20% maksimalne koncentracije u mladosti [73].

DHEA i DHEAS su među najranije indentifikovanim neurosteroidima u mozgu pacova [76, 77]. Naime, 80'tih godina prošlog veka pokazana je veća koncentracija DHEA(S) u mozgu nego u plazmi, čak i nakon adenektomije i gonadektomije kod pacova [76, 77]. Ovi rezultati ukazali su da se DHEA(S) sintetiše ne samo na periferiji, već i u CNS. *De novo* sinteza DHEA opisana je u mozgu pacova, žaba [78] i čoveka [79] i to prevashodno u astrocitima i oligodendrocitima [80].

### Mehanizam delovanja dehidroepiandrosterona

#### *Efekat dehidroepiandrosterona na jedarne receptore*

Steroidni hormoni regulišu transkripciju gena vezivanjem za specifične receptore lokalizovane u citoplazmi koji se zatim premeštaju u jedro, ili pak stupaju u direktnu interakciju sa jedarnim receptorima i/ili sekvencama na molekulu DNK koje sadrže odgovarajuća vezujuća mesta. Do danas, međutim, nije okarakterisan nijedan specifični jedarni receptor koji poseduje visok afinitet za vezivanje DHEA ili DHEAS [81, 82]. DHEA može funkcionisati kao nespecifični ligand većeg broja jedarnih receptora za koje se vezuje sa znatno nižim afinitetom u odnosu na specifične ligande. Do sada je pokazano da se DHEA i/ili DHEAS vezuju za: a) jedarne receptore klase I (receptori za steroidne hormone): androgeni receptori, estradiolski receptori  $\alpha$  i  $\beta$ ; b) jedarne receptore klase II tj. receptore koji dimerizuju sa retinoid X receptorom: PPAR $\alpha$  (engl. *peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$* ), konstitutivni receptor za androstan, pregnanski receptor X [73, 83]. Pored navedenog neposrednog delovanja, DHEA se može konvertovati u steroide koji imaju veći afinitet za vezivanje za jedarne receptore (npr. 7 $\alpha$ -hidroksi-DHEA, testosteron i estradiol), te time može posredno uticati na aktivaciju nekoliko različitih receptora u jedru [84, 85].

#### *Efekat dehidroepiandrosterona na receptore u mozgu*

DHEA(S) modulišu aktivnost nekoliko receptora za neurotransmitere delujući kao: 1) nekompetitivni antagonisti GABA receptora tipa A (engl.  *$\gamma$ -aminobutyric acid receptor type A*), pri čemu DHEAS ispoljava jači antagonistički efekat [86-89]; 2) pozitivni alosterični modulatori NMDARs [90, 91] gde DHEA(S) povećava aktivaciju posredno delovanjem na sigma 1 receptor ( $\sigma$ 1R); 3) agonisti  $\sigma$ 1R [73, 80]. Osim navedenog, potvrđeno je da se DHEA vezuje jačim afinitetom za citoskeletni protein MAP2C (engl. *microtubule-associated protein 2C*), koji se u mozgu eksprimira samo tokom razvika, osim u mirisnoj kvržici i mrežnjači u kojima se eksprimira tokom celog života [92]. DHEA se takođe vezuje za nespecifična receptorska mesta na endotelnim ćelijama koja su povezana sa aktivnošću eNOS [93].

### Neurobiološki efekti dehidroepiandrosterona

Neurobiološki efekti DHEA i njegovog suflata mogu se ostvariti direktno ili indirektno putem metabolita ili intermedijera produkovanih tokom njihove biosinteze [73, 83]. Pored toga što su direktna delovanja

ona koja su od većeg značaja za fiziološke i patofiziološke mehanizme, potencijalni indirektni efekti su mnogobrojni i prožimaju skoro sve ćelijske nivoe, te će u ovom radu biti reči samo o direktnom uticaju DHEA.

Najznačajniji i najbolje opisani efekti DHEA su oni koji govore u prilog neuroprotekcije [73]. Neuroprotektivni učinak pokazan je u modelima različitih patoloških stanja, kao što su moždana ishemija *in vivo* [94, 95] i *in vitro* [96, 97], neurotoksičnost posredovana NMDARs [97-99], povreda kičmene moždine kod miševa [100] i drugi. Opisan je blagotvoran efekat DHEA(S) na rast i razvoj neurita, kao i preživljavanje neurona i neurogenezu [101-103]. Dodatno, zabeležen je anti-oksidativni [104-106], anti-inflamatorni [107, 108] i anti-glukokortikoidni učinak egzogeno primenjenog DHEA(S) [98, 101, 107, 109], kao i efekat na sintezu i sekreciju kateholamina [16, 110, 111].

Prekliničke i kliničke studije pokazale su da suplementacija DHEA može biti potencijalno korisna u terapiji depresije, anksioznosti i drugih psihijatrijskih stanja, budući da postoje dokazi o promenjenim nivoima endogenog DHEA(S) u mozgu pacijanata koji boluju od depresije, šizofrenije, post-traumatskog stresnog poremećaja, kao i kod promena raspoloženja i kognicije zdravih pojedinaca [73].

Važno je naglasiti da efekat DHEA(S) može varirati u zavisnosti od vremena primene, doze i prisustva drugih faktora (egzogenih tretmana, intoksikacije) [73]. U skladu sa ovim, neke od studija pokazale su efekat DHEA(S) isključivo u patološkim stanjima, ali ne i fiziološkim. U *in vivo* studiji, Zarić i saradnici pokazali su da akutni tretman DHEA u fiziološkim uslovima ne dovodi do senzo-motornih promena niti alteracija strukture tkiva i morfologije neurona u hipokampusu i prečenoj kori pacova [18]. Takođe, *in vitro* neuroprotektivni učinak okarakterisan je u nekoliko studija isključivo nakon fizičkih/hemijskih povreda ili neurotoksikacije, dok u fiziološkim uslovima nije primećen nikakav efekat ili je češće dolazilo do pojave neurotoksičnosti [73]. Neurotoksičnost DHEA opisana je i u kulturi hipokampalnih neurona, pri čemu je ista doza DHEA primenjena zajedno sa kortikosteronom pokazala neuroprotektivan efekat na štetne promene izazvane ovim glukokortikoidom (23). Što se tiče visokih suprafizioloških doza DHEA, pokazano je da one mogu inhibirati kompleks I mitohondrijskog respiratornog lanca kako *in vitro* tako i *in vivo* [73, 112]. Naime, narušena respiracija u mitohodrijama pokazana je u nekoliko različitih kultura neurona (primarna kultura kortikalnih, mezencefaličnih i cerebelarnih granularnih neurona) gde je tretman visokom dozom DHEA rezultovao povećanom potrošnjom glukoze i smrti ćelija u kulturi. Dodatno, *in vivo* eksperimenti na miševima tretiranim sa 0.6% DHEA dodatim u hranu tokom 3 meseca pokazali su gubitak neurona u moždanoj kori i hipokampusu kao i poremećaj motornih sposobnosti [112]. Takođe, istraživanja u kulturi mišjih neurona i humanog neuroblastoma govore u prilog smanjenja vijabilnosti ćelija nakon tretmana DHEA [113]. *In vivo* i *in vitro* studije pokazale su da, u zavisnosti od vremena primene, DHEA može ostvariti neurotrofički i neuroprotektivni efekat putem blokade NMDARs posredovane neurotoksičnosti [98, 99]. Na primer, kotretman N-metil-D-aspartatom (NMDA) i DHEA u primarnoj kulturi hipokampalnih neurona pokazao je neuroprotektivne efekte DHEA dok predtretman ovim steroidom ili njegova primena 24h nakon NMDA nisu imali nikakav efekat na NMDA posredovanu neurotoksičnost [99]. Akutni tretman DHEA je u ovom slučaju delovao neuroprotektivno putem smanjenja prekomerne aktivnosti NOS i produkcije NO koja je posredovana aktivacijom NMDARs [99].

### Dehidroepiandrosteron i moždana ishemija/reperfuzija

Iako je efekat DHEA opisan u različitim patologijama, *in vitro* i *in vivo* studije koje se odnose na moždanu I/R nisu tako brojne. Pokazano je da predtretman DHEA(S) ima uticaja na preživljavanje neurona moždane kore pacova ukoliko su odgajani u uslovima anoksije [96], kao i na smanjenje oštećenja hipokampusu pacova izloženih I/R [95]. Sa druge strane, jednokratna primena DHEA kao predtretmana u *in vivo* modelu I/R



rezultovala je većim stepenom smrti neurona i pogoršanjem kognitivnih sposobnosti. Interesantno je da se ovakav efekat uočavao i ukoliko se tretman primeni neposredno nakon uspostavljanja I/R, dok je u vremenskom okviru od 3 do 48 sati nakon I/R, primećeno smanjenje smrti neurona i poboljšanje kognitivnog deficita nastalog usled I/R [114].

Sa druge strane, Zarić i saradnici (2019) u svojoj studiji navode da treba razmotriti ranije prijavljeni neuroprotektivni efekat DHEA budući da je njegova primena 4 sata nakon 15 min ishemije/24 h reperfuzije kod mužjaka pacova ukazala na potencijalno pokretanje pro-apoptotskih događaja u hipokampusu. Naime, u ovom istraživanju je kod ishemičnih životinja tretiranih DHEA (20 mg/kg) pokazano povećanje pro-apoptotskog odnosa Bax/Bcl-2 i narušavanje MPM u hipokampusu koje nije uočeno u netretiranoj ishemičnoj grupi ukazujući na potencijalno štetan efekat tretmana u ishemičnim uslovima. Ista grupa pokazala je da u ishemičnom stanju DHEA može ostvariti diskretne region-specifične efekte vraćajući nivo proteina PSD-95 u hipokampusu i NR1 subjedinice NMDARs u prečeonj kori na kontrolnu vrednost. Dodatno, autori prijavljuju i da je tretman DHEA vratio post-ishemični povećani nivo NO na kontrolnu vrednost u moždanoj kori, dok je ovaj efekat izostao u hipokampusu gde je nivo NO i proteinska ekspresija nNOS ostala povećana i nakon tretmana DHEA [18].

Pored važnosti odabira adekvatne vremenske tačke, pokazan je i značaj primenjene doze DHEA. Li i saradnici (2009) ukazali su da predtretman viskom dozom DHEA redukuje oštećenja hipokampusu pacova koja nastaju usled 10 min I/R, dok taj efekat izostaje korišćenjem nižih koncentracija [114]. Iako je zabeležena neuroprotekcija blaga, autori sugerišu potencijalno korišćenje suplementacije DHEA u terapiji MU. Dozozavisni neuroprotektivni efekat DHEA na smrt neurona i kognitivni deficit koji nastaje usled moždane ishemije pokazali su i Yabuki i saradnici (2015) [115]. U drugoj studiji pokazan je protektivni efekat DHEA na promene oksidativnog statusa nakon I/R kod dijabetičnih pacova. U ovom istraživanju normoglikemijski, i pacovi tretirani streptozotocinom u cilju izazivanja dijabetičnog stanja, bili su podvrgnuti bilateralnoj okluziji karotidnih arterija (I=30 min, R=60 min), te su potom bili tretirani DHEA tokom 7, 14 ili 21 dan. Rezultati studije pokazali su da je primenjena I/R povećala nivoe ROS i pogoršala sinaptičku funkciju utičući na membransku aktivnost Na/K-ATPaze i oslobađanje laktat dehidrogenaze kod svih grupa životinja. Budući da hronična hiperglikemija sama po sebi dovodi do disbalansa oksidativnog statusa u tkivu, post-ishemični disbalans oksidativnog statusa je bio većeg obima kod dijabetičnih pacova nego kod normoglikemijske grupe nakon primenjene I/R. Tretman DHEA je uspešno vratio nivo različitih ROS blizu kontrolnog kod normoglikemijskih pacova dok je čak i kod kompromitovanih dijabetičnih pacova doveo do značajnog smanjenja ROS nakon I/R. Štaviše, DHEA tretman je imao blagotvoran efekat na narušen integritet i funkciju membrane nakon I/R, uzimajući u obzir značajno smanjenje povećanog oslobađanja laktat dehidrogenaze i pada aktivnosti Na/K-ATPaze kako kod normoglikemijskih tako i kod dijabetičnih pacova nakon tretmana [116].

Budući da nakon I/R dolazi do aktivacije glijskih ćelija i povećane produkcije različitih proinflamatornih citokina i interleukina, pre svega TNF- $\alpha$  i IL-6, te narušavanja KMB, bitno je spomenuti efekat koji DHEA(S) ostvaruju na astrocite [117, 118]. Naime, pokazano je da DHEA i DHEAS mogu inhibirati produkciju TNF- $\alpha$  *in vivo* i *in vitro* u različitim eksperimentalnim postavkama [119, 120]. Stoga bi jedan od potencijalnih mehanizama post-ishemične neuroprotekcije DHEA(S) mogao biti upravo regulacija prekomerne produkcije TNF- $\alpha$  i IL-6 u astrocitima čime bi se pospešilo očuvanje integriteta KMB [118].

#### *Povezanost endogenog nivoa DHEA(S) i moždane ishemije u humanoј populaciji*

Aktivacija hipotalamo-hipofizno-nadbubrežne (HHN) ose je pokazana kod različitih akutnih oboljenja

[121-123]. Upravo je odgovor HHN ose jedan od prvih merljivih fizioloških odgovora na moždanu ishemiju [124-126], dok nivo kortizola može služiti kao parametar koji određuje funkcionalni ishod u akutnom MU [127-129]. Pored kortizola, DHEA i njegov sulfat se takođe oslobađaju tokom HHN aktivacije. U fiziološkim uslovima, lučenje DHEA je sinhronizovano sa kortizolom kao odgovor na kortikotropni oslobađajući hormon i adrenokortikotropni hormon [130, 131]. Disbalans ili neadekvatan odgovor na stresor i smanjena količina DHEAS je povezana sa nepovoljnim ishodom kod različitih bolesti uključujući sepsu i septički šok u nekim, ali ne u svim studijama [132, 133]. Studije koje se bave povezanošću endogenog post-ishemičkog nivoa DHEA i kliničke slike kod pacijenata prezentovale su dosta kontradiktorne rezultate. Jedna od studija je pokazala da je DHEAS, ali ne i DHEA, povezan sa boljim funkcionalnim ishodom ali ne i preživljavanjem kod pacijenata nakon MU [123], što je u osnovi primećeno i u studiji u kojoj su ispitanice bile žene u postmenopauzi [134]. Sličan ishod navodi i studija Jimenez i saradnika (2013) koja je pokazala da nizak nivo DHEAS pozitivno korelira sa povećanim rizikom od IMU kod žena [135]. Suprotno ovim podacima, u istraživanju Marklund i saradnika (2004) nije primećena korelacija između endogenog nivoa DHEAS i funkcionalnog ishoda [124]. Interesantno je da je kod pacijenata koji pate od multi-infarktne demencije detektovan značajan pad DHEAS u cerebrospinalnoj tečnosti, te da je nakon njegove intravenske primene primećeno znatno poboljšanje motornih sposobnosti i emotivne stabilnosti [136].

## ZAKLJUČAK

Moždana I/R predstavlja izuzetno kompleksno stanje čija je etiologija multifaktorijalna, što otežava pronalazak i kliničku efikasnost potencijalnog terapeutika te uprkos brojnim istraživanjima tokom poslednjih par decenija još uvek nije pronađena adekvatna terapija za cerebro-vaskularna oboljenja poput MU i TIA. Iz svega navedenog u ovom radu, može se zaključiti da DHEA poseduje potencijalni post-ishemični neuro-protektivni učinak, ali da su doza i vreme primene izuzetno značajni i ostaju i dalje upitni, što umnogome limitira njegovu potencijalnu primenu u lečenju humanih cerebro-vaskularnih oboljenja. Naposletku, eksperimentalni dokazi koji govore u prilog neurotoksičnosti post-ishemičnog tretmana DHEA svakako ukazuju da je ovaj neurosteroid još uvek daleko od primene u kliničkoj praksi, kao i da se suplementacija DHEA ne sme primenjivati olako i u visokim dozama.

## 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. Knight-Greenfield A, Nario JJQ, Gupta A. Causes of Acute Stroke: A Patterned Approach. *Radiologic clinics of North America*. 2019;57(6):1093-108.
2. Barthels D, Das H. Current advances in ischemic stroke research and therapies. *Biochimica et biophysica acta Molecular basis of disease*. 2020;1866(4):165260.
3. Yew KS, Cheng EM. Diagnosis of acute stroke. *American family physician*. 2015;91(8):528-36.
4. Easton JD, Saver JL, Albers GW, Alberts MJ, Chaturvedi S, Feldmann E, et al. Definition and evaluation of transient ischemic attack: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Nursing; and the Interdisciplinary Council on Peripheral Vascular Disease. The American Academy of Neurology affirms the value of this statement as an educational tool for neurologists. *Stroke*. 2009;40(6):2276-93.
5. Lai SL, Chen YC, Weng HH, Chen ST, Hsu SP, Lee TH. Bilateral common carotid artery occlusion—a case report and literature review. *Journal of the neurological sciences*. 2005;238(1-2):101-4.
6. Kavakli AS, Ayoglu RU, Ozturk NK, Sagdic K, Yilmaz M, Inanoglu K, et al. Simultaneous Bilateral Carotid Endarterectomy under Cervical Plexus Blockade. *Turkish journal of anaesthesiology and reanimation*. 2015;43(5):367-70.
7. Clissold B, Phan TG, Ly J, Singhal S, Srikanth V, Ma H. Current aspects of TIA management. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. 2020;72:20-5.
8. Walters RJ, Fox NC, Schott JM, Crum WR, Stevens JM, Rossor MN, et al. Transient ischaemic attacks are associated with increased rates of global cerebral atrophy. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry*. 2003;74(2):213-6.
9. Liesch M. [Ischemic stroke and TIA]. *Praxis*. 2012;101(1):43-50.
10. Sicard KM, Fisher M. Animal models of focal brain ischemia. *Experimental & translational stroke medicine*. 2009;1:7.
11. Li Y, Zhang J. Animal models of stroke. *Animal models and experimental medicine*. 2021;4(3):204-19.
12. Bacigaluppi M, Comi G, Hermann DM. Animal models of ischemic stroke. Part two: modeling cerebral ischemia. *The open neurology journal*. 2010;4:34-8.
13. Broughton BR, Reutens DC, Sobey CG. Apoptotic mechanisms after cerebral ischemia. *Stroke*. 2009;40(5):e331-9.
14. Gauthier LV, Taub E, Mark VW, Barghi A, Uswatte G. Atrophy of spared gray matter tissue predicts poorer motor recovery and rehabilitation response in chronic stroke. *Stroke*. 2012;43(2):453-7.
15. Puig B, Brenna S, Magnus T. Molecular Communication of a Dying Neuron in Stroke. *International journal of molecular sciences*. 2018;19(9).
16. Sicard F, Ehrhart-Bornstein M, Corbeil D, Sperber S, Krug AW, Ziegler CG, et al. Age-dependent regulation of chromaffin cell proliferation by growth factors, dehydroepiandrosterone (DHEA), and DHEA sulfate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(6):2007-12.
17. Sommer CJ. Ischemic stroke: experimental models and reality. *Acta neuropathologica*. 2017;133(2):245-61.
18. Zaric M, Drakulic D, Dragic M, Gusevac Stojanovic I, Mitrovic N, Grkovic 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.
19. Zaric M, Drakulic D, Stojanovic IG, Mitrovic N, Grkovic I, Martinovic 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.
20. Lowry OH, Passonneau JV, Hasselberger FX, Schulz DW. Effect of Ischemia on Known Substrates and Cofactors of the Glycolytic Pathway in Brain. *The Journal of biological chemistry*. 1964;239:18-30.
21. Siemkowicz E, Gjedde A. Post-ischemic coma in rat: effect of different pre-ischemic blood glucose levels on cerebral metabolic recovery after ischemia. *Acta physiologica Scandinavica*. 1980;110(3):225-32.
22. Traystman RJ. Animal models of focal and global cerebral ischemia. *ILAR journal*. 2003;44(2):85-95.
23. Pulsinelli WA, Buchan AM. The four-vessel occlusion rat model: method for complete occlusion of vertebral arteries and control of collateral circulation. *Stroke*. 1988;19(7):913-4.

24. Eklof B, Siesjo BK. The effect of bilateral carotid artery ligation upon acid-base parameters and substrate levels in the rat brain. *Acta physiologica Scandinavica*. 1972;86(4):528-38.
25. Stanojlovic M, Gusevac Stojanovic I, Zaric M, Martinovic J, Mitrovic N, Grkovic I, et al. Progesterone Protects Prefrontal Cortex in Rat Model of Permanent Bilateral Common Carotid Occlusion via Progesterone Receptors and Akt/Erk/eNOS. *Cellular and molecular neurobiology*. 2020;40(5):829-43.
26. Stanojlovic M, Zlatkovic J, Gusevac I, Grkovic I, Mitrovic N, Zaric M, et al. Repeated low-dose 17beta-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.
27. Harukuni I, Bhardwaj A. Mechanisms of brain injury after global cerebral ischemia. *Neurologic clinics*. 2006;24(1):1-21.
28. White BC, Sullivan JM, DeGracia DJ, O'Neil BJ, Neumar RW, Grossman LI, et al. Brain ischemia and reperfusion: molecular mechanisms of neuronal injury. *Journal of the neurological sciences*. 2000;179(S 1-2):1-33.
29. Sanderson TH, Reynolds CA, Kumar R, Przyklenk K, Huttemann M. Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation. *Molecular neurobiology*. 2013;47(1):9-23.
30. Lai TW, Shyu WC, Wang YT. Stroke intervention pathways: NMDA receptors and beyond. *Trends in molecular medicine*. 2011;17(5):266-75.
31. Wu QJ, Tymianski M. Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection. *Molecular brain*. 2018;11(1):15.
32. Candelario-Jalil E, Mhadu NH, Al-Dalain SM, Martinez G, Leon OS. Time course of oxidative damage in different brain regions following transient cerebral ischemia in gerbils. *Neuroscience research*. 2001;41(3):233-41.
33. L L, X W, Z Y. Ischemia-reperfusion Injury in the Brain: Mechanisms and Potential Therapeutic Strategies. *Biochemistry & pharmacology : open access*. 2016;5(4).
34. Zhou Q, Sheng M. NMDA receptors in nervous system diseases. *Neuropharmacology*. 2013;74:69-75.
35. Russo E, Nguyen H, Lippert T, Tuazon J, Borlongan CV, Napoli E. Mitochondrial targeting as a novel therapy for stroke. *Brain circulation*. 2018;4(3):84-94.
36. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2007;39(1):44-84.
37. Sun MS, Jin H, Sun X, Huang S, Zhang FL, Guo ZN, et al. Free Radical Damage in Ischemia-Reperfusion Injury: An Obstacle in Acute Ischemic Stroke after Revascularization Therapy. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018;2018:3804979.
38. Zlatkovic J, Todorovic N, Boskovic M, Pajovic SB, Demajo M, Filipovic D. Different susceptibility of prefrontal cortex and hippocampus to oxidative stress following chronic social isolation stress. *Molecular and cellular biochemistry*. 2014;393(1-2):43-57.
39. Kalogeris T, Bao Y, Korthuis RJ. Mitochondrial reactive oxygen species: a double edged sword in ischemia/reperfusion vs preconditioning. *Redox biology*. 2014;2:702-14.
40. Walder CE, Green SP, Darbonne WC, Mathias J, Rae J, Dinanier MC, et al. Ischemic stroke injury is reduced in mice lacking a functional NADPH oxidase. *Stroke*. 1997;28(11):2252-8.
41. Granzotto A, Sensi SL. Intracellular zinc is a critical intermediate in the excitotoxic cascade. *Neurobiology of disease*. 2015;81:25-37.
42. Nelson CW, Wei EP, Povlishock JT, Kontos HA, Moskowitz MA. Oxygen radicals in cerebral ischemia. *The American journal of physiology*. 1992;263(5 Pt 2):H1356-62.
43. Li P, Hu X, Gan Y, Gao Y, Liang W, Chen J. Mechanistic insight into DNA damage and repair in ischemic stroke: exploiting the base excision repair pathway as a model of neuroprotection. *Antioxidants & redox signaling*. 2011;14(10):1905-18.
44. Vaseva AV, Marchenko ND, Ji K, Tsirka SE, Holzmann S, Moll UM. p53 opens the mitochondrial permeability transition pore to trigger necrosis. *Cell*. 2012;149(7):1536-48.
45. Zlatkovic J, Filipovic D. Bax and B-cell-lymphoma 2 mediate proapoptotic signaling following chronic isolation stress in rat brain. *Neuroscience*. 2012;223:238-45.
46. Veit F, Pak O, Brandes RP, Weissmann N. Hypoxia-dependent reactive oxygen species signaling in the pulmonary circulation: focus on ion channels. *Antioxidants & redox signaling*. 2015;22(6):537-52.

47. Zlatkovic J, Filipovic D. Chronic social isolation induces NF-kappaB activation and upregulation of iNOS protein expression in rat prefrontal cortex. *Neurochemistry international*. 2013;63(3):172-9.
48. Nigam S, Schewe T. Phospholipase A(2)s and lipid peroxidation. *Biochimica et biophysica acta*. 2000;1488(1-2):167-81.
49. Ren Z, Zhang R, Li Y, Li Y, Yang Z, Yang H. Ferulic acid exerts neuroprotective effects against cerebral ischemia/reperfusion-induced injury via antioxidant and anti-apoptotic mechanisms in vitro and in vivo. *International journal of molecular medicine*. 2017;40(5):1444-56.
50. Warner DS, Sheng H, Batinic-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *The Journal of experimental biology*. 2004;207(Pt 18):3221-31.
51. Narne P, Pandey V, Phanithi PB. Role of Nitric Oxide and Hydrogen Sulfide in Ischemic Stroke and the Emergent Epigenetic Underpinnings. *Molecular neurobiology*. 2019;56(3):1749-69.
52. Zhou L, Zhu DY. Neuronal nitric oxide synthase: structure, subcellular localization, regulation, and clinical implications. *Nitric oxide : biology and chemistry*. 2009;20(4):223-30.
53. Chen ZQ, Mou RT, Feng DX, Wang Z, Chen G. The role of nitric oxide in stroke. *Medical gas research*. 2017;7(3):194-203.
54. Trimmer BA, Aprille JR, Dudzinski DM, Lagace CJ, Lewis SM, Michel T, et al. Nitric oxide and the control of firefly flashing. *Science*. 2001;292(5526):2486-8.
55. Iadecola C, Anrather J. The immunology of stroke: from mechanisms to translation. *Nature medicine*. 2011;17(7):796-808.
56. Mollace V, Muscoli C, Masini E, Cuzzocrea S, Salvemini D. Modulation of prostaglandin biosynthesis by nitric oxide and nitric oxide donors. *Pharmacological reviews*. 2005;57(2):217-52.
57. Shahani N, Sawa A. Protein S-nitrosylation: role for nitric oxide signaling in neuronal death. *Biochimica et biophysica acta*. 2012;1820(6):736-42.
58. Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends in neurosciences*. 1999;22(9):391-7.
59. Vyklicky V, Korinek M, Smejkalova T, Balik A, Krausova B, Kaniakova M, et al. Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels. *Physiological research*. 2014;63(Suppl 1):S191-203.
60. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*. 1972;26(4):239-57.
61. Datta A, Sarmah D, Mounica L, Kaur H, Kesharwani R, Verma G, et al. Cell Death Pathways in Ischemic Stroke and Targeted Pharmacotherapy. *Translational stroke research*. 2020;11(6):1185-202.
62. Marsden VS, Strasser A. Control of apoptosis in the immune system: Bcl-2, BH3-only proteins and more. *Annual review of immunology*. 2003;21:71-105.
63. Raisova M, Hossini AM, Eberle J, Riebeling C, Wieder T, Sturm I, et al. The Bax/Bcl-2 ratio determines the susceptibility of human melanoma cells to CD95/Fas-mediated apoptosis. *The Journal of investigative dermatology*. 2001;117(2):333-40.
64. Zorova LD, Popkov VA, Plotnikov EY, Silachev DN, Pevzner IB, Jankauskas SS, et al. Mitochondrial membrane potential. *Analytical biochemistry*. 2018;552:50-9.
65. Gao Y, Chen T, Lei X, Li Y, Dai X, Cao Y, et al. Neuroprotective effects of polydatin against mitochondrial-dependent apoptosis in the rat cerebral cortex following ischemia/reperfusion injury. *Molecular medicine reports*. 2016;14(6):5481-8.
66. Kreutzberg GW. Microglia, the first line of defence in brain pathologies. *Arzneimittel-Forschung*. 1995;45(3A):357-60.
67. Lucas SM, Rothwell NJ, Gibson RM. The role of inflammation in CNS injury and disease. *British journal of pharmacology*. 2006;147 Suppl 1:S232-40.
68. Swanson RA, Ying W, Kauppinen TM. Astrocyte influences on ischemic neuronal death. *Current molecular medicine*. 2004;4(2):193-205.
69. Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta neuropathologica*. 2010;119(1):7-35.
70. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Basic immunology : functions and disorders of the immune system*. Fourth edition. ed. ix, 320 pages p.
71. Chen R, Zhang X, Gu L, Zhu H, Zhong Y, Ye Y, et al. New Insight Into Neutrophils: A Potential Therapeutic Target for Cerebral Ischemia. *Frontiers in immunology*. 2021;12:692061.

72. Zhang D, Ren J, Luo Y, He Q, Zhao R, Chang J, et al. T Cell Response in Ischemic Stroke: From Mechanisms to Translational Insights. *Frontiers in immunology*. 2021;12:707972.
73. Maninger N, Wolkowitz OM, Reus VI, Epel ES, Mellon SH. Neurobiological and neuropsychiatric effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) and DHEA sulfate (DHEAS). *Frontiers in neuroendocrinology*. 2009;30(1):65-91.
74. Parker LN, Odell WD. Control of adrenal androgen secretion. *Endocrine reviews*. 1980;1(4):392-410.
75. Havelock JC, Auchus RJ, Rainey WE. The rise in adrenal androgen biosynthesis: adrenarche. *Seminars in reproductive medicine*. 2004;22(4):337-47.
76. Corpechot C, Robel P, Axelson M, Sjoval J, Baulieu EE. Characterization and measurement of dehydroepiandrosterone sulfate in rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1981;78(8):4704-7.
77. Corpechot C, Synguelakis M, Talha S, Axelson M, Sjoval J, Vihko R, et al. Pregnenolone and its sulfate ester in the rat brain. *Brain research*. 1983;270(1):119-25.
78. Hojo Y, Hattori TA, Enami T, Furukawa A, Suzuki K, Ishii HT, et al. Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone by cytochromes P45017alpha and P450 aromatase localized in neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(3):865-70.
79. Brown RC, Cascio C, Papadopoulos V. Pathways of neurosteroid biosynthesis in cell lines from human brain: regulation of dehydroepiandrosterone formation by oxidative stress and beta-amyloid peptide. *Journal of neurochemistry*. 2000;74(2):847-59.
80. Maurice T, Gregoire C, Espallergues J. Neuro(active)steroids actions at the neuromodulatory sigma1 (sigma1) receptor: biochemical and physiological evidences, consequences in neuroprotection. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 2006;84(4):581-97.
81. Webb SJ, Geoghegan TE, Prough RA, Michael Miller KK. The biological actions of dehydroepiandrosterone involves multiple receptors. *Drug metabolism reviews*. 2006;38(1-2):89-116.
82. Widstrom RL, Dillon JS. Is there a receptor for dehydroepiandrosterone or dehydroepiandrosterone sulfate? *Seminars in reproductive medicine*. 2004;22(4):289-98.
83. Clark BJ, Prough RA, Klinge CM. Mechanisms of Action of Dehydroepiandrosterone. *Vitamins and hormones*. 2018;108:29-73.
84. Labrie F. Adrenal androgens and intracrinology. *Seminars in reproductive medicine*. 2004;22(4):299-309.
85. Chalbot S, Morfin R. Dehydroepiandrosterone metabolites and their interactions in humans. *Drug metabolism and drug interactions*. 2006;22(1):1-23.
86. Majewska MD. Neurosteroids: endogenous bimodal modulators of the GABAA receptor. Mechanism of action and physiological significance. *Progress in neurobiology*. 1992;38(4):379-95.
87. Melchior CL, Ritzmann RF. Dehydroepiandrosterone is an anxiolytic in mice on the plus maze. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. 1994;47(3):437-41.
88. Sousa A, Ticku MK. Interactions of the neurosteroid dehydroepiandrosterone sulfate with the GABA(A) receptor complex reveals that it may act via the picrotoxin site. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1997;282(2):827-33.
89. Imamura M, Prasad C. Modulation of GABA-gated chloride ion influx in the brain by dehydroepiandrosterone and its metabolites. *Biochemical and biophysical research communications*. 1998;243(3):771-5.
90. Baulieu EE. Neurosteroids: a novel function of the brain. *Psychoneuroendocrinology*. 1998;23(8):963-87.
91. Compagnone NA, Mellon SH. Neurosteroids: biosynthesis and function of these novel neuromodulators. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2000;21(1):1-56.
92. Laurine E, Lafitte D, Gregoire C, Seree E, Loret E, Douillard S, et al. Specific binding of dehydroepiandrosterone to the N terminus of the microtubule-associated protein MAP2. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(32):29979-86.
93. Liu D, Dillon JS. Dehydroepiandrosterone activates endothelial cell nitric-oxide synthase by a specific plasma membrane receptor coupled to Galpha(i2,3). *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(24):21379-88.
94. Lapchak PA, Chapman DF, Nunez SY, Zivin JA. Dehydroepiandrosterone sulfate is neuroprotective in a reversible spinal cord ischemia model: possible involvement of GABA(A) receptors. *Stroke*. 2000;31(8):1953-6; discussion 7.

95. Li H, Klein G, Sun P, Buchan AM. Dehydroepiandrosterone (DHEA) reduces neuronal injury in a rat model of global cerebral ischemia. *Brain research*. 2001;888(2):263-6.
96. Marx CE, Jarskog LF, Lauder JM, Gilmore JH, Lieberman JA, Morrow AL. Neurosteroid modulation of embryonic neuronal survival in vitro following anoxia. *Brain research*. 2000;871(1):104-12.
97. Kaasik A, Kalda A, Jaako K, Zharkovsky A. Dehydroepiandrosterone sulphate prevents oxygen-glucose deprivation-induced injury in cerebellar granule cell culture. *Neuroscience*. 2001;102(2):427-32.
98. Kimonides VG, Spillantini MG, Sofroniew MV, Fawcett JW, Herbert J. Dehydroepiandrosterone antagonizes the neurotoxic effects of corticosterone and translocation of stress-activated protein kinase 3 in hippocampal primary cultures. *Neuroscience*. 1999;89(2):429-36.
99. Kurata K, Takebayashi M, Morinobu S, Yamawaki S. beta-estradiol, dehydroepiandrosterone, and dehydroepiandrosterone sulfate protect against N-methyl-D-aspartate-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons by different mechanisms. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2004;311(1):237-45.
100. Fiore C, Inman DM, Hirose S, Noble LJ, Igarashi T, Compagnone NA. Treatment with the neurosteroid dehydroepiandrosterone promotes recovery of motor behavior after moderate contusive spinal cord injury in the mouse. *Journal of neuroscience research*. 2004;75(3):391-400.
101. Karishma KK, Herbert J. Dehydroepiandrosterone (DHEA) stimulates neurogenesis in the hippocampus of the rat, promotes survival of newly formed neurons and prevents corticosterone-induced suppression. *The European journal of neuroscience*. 2002;16(3):445-53.
102. Naert G, Maurice T, Tapia-Arancibia L, Givalois L. Neuroactive steroids modulate HPA axis activity and cerebral brain-derived neurotrophic factor (BDNF) protein levels in adult male rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2007;32(8-10):1062-78.
103. Sakr HF, Khalil KI, Hussein AM, Zaki MS, Eid RA, Alkhateeb M. Effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on memory and brain derived neurotrophic factor (BDNF) in a rat model of vascular dementia. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*. 2014;65(1):41-53.
104. Bastianetto S, Ramassamy C, Poirier J, Quirion R. Dehydroepiandrosterone (DHEA) protects hippocampal cells from oxidative stress-induced damage. *Brain research Molecular brain research*. 1999;66(1-2):35-41.
105. Cardounel A, Regelson W, Kalimi M. Dehydroepiandrosterone protects hippocampal neurons against neurotoxin-induced cell death: mechanism of action. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine*. 1999;222(2):145-9.
106. Tamagno E, Guglielmotto M, Bardini P, Santoro G, Davit A, Di Simone D, et al. Dehydroepiandrosterone reduces expression and activity of BACE in NT2 neurons exposed to oxidative stress. *Neurobiology of disease*. 2003;14(2):291-301.
107. Kalimi M, Shafagoj Y, Loria R, Padgett D, Regelson W. Anti-glucocorticoid effects of dehydroepiandrosterone (DHEA). *Molecular and cellular biochemistry*. 1994;131(2):99-104.
108. Chen CC, Parker CR, Jr. Adrenal androgens and the immune system. *Seminars in reproductive medicine*. 2004;22(4):369-77.
109. Hu Y, Cardounel A, Gursoy E, Anderson P, Kalimi M. Anti-stress effects of dehydroepiandrosterone: protection of rats against repeated immobilization stress-induced weight loss, glucocorticoid receptor production, and lipid peroxidation. *Biochemical pharmacology*. 2000;59(7):753-62.
110. Svec F, Porter J. The effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on Zucker rat food selection and hypothalamic neurotransmitters. *Psychoneuroendocrinology*. 1997;22 Suppl 1:S57-62.
111. Perez-Neri I, Montes S, Ojeda-Lopez C, Ramirez-Bermudez J, Rios C. Modulation of neurotransmitter systems by dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate: mechanism of action and relevance to psychiatric disorders. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. 2008;32(5):1118-30.
112. Safiulina D, Peet N, Seppet E, Zharkovsky A, Kaasik A. Dehydroepiandrosterone inhibits complex I of the mitochondrial respiratory chain and is neurotoxic in vitro and in vivo at high concentrations. *Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology*. 2006;93(2):348-56.
113. Gil-ad I, Shtauf B, Eshet R, Maayan R, Rehavi M, Weizman A. Effect of dehydroepiandrosterone and its sulfate metabolite on neuronal cell viability in culture. *The Israel Medical Association journal : IMAJ*. 2001;3(9):639-43.

114. Li Z, Cui S, Zhang Z, Zhou R, Ge Y, Sokabe M, et al. DHEA-neuroprotection and -neurotoxicity after transient cerebral ischemia in rats. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2009;29(2):287-96.
115. Yabuki Y, Shinoda Y, Izumi H, Ikuno T, Shioda N, Fukunaga K. Dehydroepiandrosterone administration improves memory deficits following transient brain ischemia through sigma-1 receptor stimulation. *Brain research*. 2015;1622:102-13.
116. Aragno M, Parola S, Brignardello E, Mauro A, Tamagno E, Manti R, et al. Dehydroepiandrosterone prevents oxidative injury induced by transient ischemia/reperfusion in the brain of diabetic rats. *Diabetes*. 2000;49(11):1924-31.
117. McColl BW, Allan SM, Rothwell NJ. Systemic inflammation and stroke: aetiology, pathology and targets for therapy. *Biochemical Society transactions*. 2007;35(Pt 5):1163-5.
118. Arbo BD, Ribeiro FS, Ribeiro MF. Astrocyte Neuroprotection and Dehydroepiandrosterone. *Vitamins and hormones*. 2018;108:175-203.
119. Kipper-Galperin M, Galilly R, Danenberg HD, Brenner T. Dehydroepiandrosterone selectively inhibits production of tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 [correction of interlukin-6] in astrocytes. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 1999;17(8):765-75.
120. Di Santo E, Foddi MC, Ricciardi-Castagnoli P, Mennini T, Ghezzi P. DHEAS inhibits TNF production in monocytes, astrocytes and microglial cells. *Neuroimmunomodulation*. 1996;3(5):285-8.
121. Widmer IE, Puder JJ, Konig C, Pargger H, Zerkowski HR, Girard J, et al. Cortisol response in relation to the severity of stress and illness. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(8):4579-86.
122. Hamrahian AH, Oseni TS, Arafah BM. Measurements of serum free cortisol in critically ill patients. *The New England journal of medicine*. 2004;350(16):1629-38.
123. Blum CA, Mueller C, Schuetz P, Fluri F, Trummler M, Mueller B, et al. Prognostic value of dehydroepiandrosterone-sulfate and other parameters of adrenal function in acute ischemic stroke. *PloS one*. 2013;8(5):e63224.
124. Marklund N, Peltonen M, Nilsson TK, Olsson T. Low and high circulating cortisol levels predict mortality and cognitive dysfunction early after stroke. *Journal of internal medicine*. 2004;256(1):15-21.
125. Christensen H, Boysen G, Johannesen HH. Serum-cortisol reflects severity and mortality in acute stroke. *Journal of the neurological sciences*. 2004;217(2):175-80.
126. Michalaki M, Margeli T, Tsekouras A, Gogos CH, Vagenakis AG, Kyriazopoulou V. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to the severity of illness in non-critically ill patients: does relative corticosteroid insufficiency exist? *European journal of endocrinology*. 2010;162(2):341-7.
127. Anne M, Juha K, Timo M, Mikko T, Olli V, Kyosti S, et al. Neurohormonal activation in ischemic stroke: effects of acute phase disturbances on long-term mortality. *Current neurovascular research*. 2007;4(3):170-5.
128. Neidert S, Katan M, Schuetz P, Fluri F, Ernst A, Bingisser R, et al. Anterior pituitary axis hormones and outcome in acute ischaemic stroke. *Journal of internal medicine*. 2011;269(4):420-32.
129. Slowik A, Turaj W, Pankiewicz J, Dziedzic T, Szermer P, Szczudlik A. Hypercortisolemia in acute stroke is related to the inflammatory response. *Journal of the neurological sciences*. 2002;196(1-2):27-32.
130. Rosenfeld RS, Hellman L, Roffwarg H, Weitzman ED, Fukushima DK, Gallagher TF. Dehydroisoandrosterone is secreted episodically and synchronously with cortisol by normal man. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1971;33(1):87-92.
131. Pavlov EP, Harman SM, Chrousos GP, Loriaux DL, Blackman MR. Responses of plasma adrenocorticotropin, cortisol, and dehydroepiandrosterone to ovine corticotropin-releasing hormone in healthy aging men. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1986;62(4):767-72.
132. Arlt W, Hammer F, Sanning P, Butcher SK, Lord JM, Allolio B, et al. Dissociation of serum dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulfate in septic shock. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2006;91(7):2548-54.
133. Beishuizen A, Thijs LG, Vermes I. Decreased levels of dehydroepiandrosterone sulphate in severe critical illness: a sign of exhausted adrenal reserve? *Critical care*. 2002;6(5):434-8.
134. Pappa T, Vemmos K, Saltiki K, Mantzou E, Stamatelopoulos K, Alevizaki M. Severity and outcome of acute stroke in women: relation to adrenal sex steroid levels. *Metabolism: clinical and experimental*. 2012;61(1):84-91.



135. Jimenez MC, Sun Q, Schurks M, Chiuve S, Hu FB, Manson JE, et al. Low dehydroepiandrosterone sulfate is associated with increased risk of ischemic stroke among women. *Stroke*. 2013;44(7):1784-9.
136. Azuma T, Nagai Y, Saito T, Funauchi M, Matsubara T, Sakoda S. The effect of dehydroepiandrosterone sulfate administration to patients with multi-infarct dementia. *Journal of the neurological sciences*. 1999;162(1):69-73.



## **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  
Narodna biblioteka Srbije, Beograd

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