

Broj 3 • septembar 2023. № 3 • September 2023.



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



GODINA OD OTKRIĆA
SEKUNDARNE STRUKTURE MOLEKULA DNK



Beograd • Belgrade • 2023.
IMGGI • IMGGE

70 godina od otkrića sekundarne strukture molekula DNK	8
The 70 th anniversary of the discovery of DNA secondary structure	
Goran Brajušković	
Varijabilnost mitohondrijskog genskog pula stanovnika Republike Srbije	18
Mitochondrial gene pool variability of the residents of the Republic of Serbia	
Slobodan Davidović, Jelena M. Aleksić, Milena Stevanović i Nataša Kovačević Grujičić	
Sekvenciranje dugih fragmenata – sledeći nivo genomskih istraživanja	38
Long read sequencing – the next level in genomic research	
Dušanka Savić-Pavićević, Lana Radenković, Luka Velimirov, Nemanja Radovanović, Anastasija Ninković, Nemanja Garai, Miloš Brkušanin, Marko Panić, Jovan Pešović	
Stereotipija B-ćelijskog receptora u hroničnoj limfocitnoj leukemiji	58
B-cell receptor stereotypy in chronic lymphocytic leukemia	
Teodora Karan-Đurašević	
Sadašnjost i budućnost primene sekvenciranja nove generacije za retke bolesti	78
Present and future of next-generation sequencing application for rare diseases	
Maja Stojiljković i Jovana Komazec	
Uloga vazopresinskog sistema paraventrikularnog jedra u razvoju hipertenzije	90
The role of paraventricular nucleus vasopressin system in development of hypertension	
Bojana Stevanović, Nina Japundžić-Žigon	
Antioksidativni i antiinflamatorni efekti suplementacije orasima (<i>Juglans regia</i> L.) na srce u metaboličkom sindromu izazvanom ishranom bogatom fruktozom	106
Antioxidative and antiinflammatory effects of walnut supplementation (<i>Juglans regia</i> L.) on heart with fructose-rich diet-induced metabolic syndrome	
Maja Bubić, Maja Živković	
PHACTR1 u kardiovaskularnim bolestima: od studija asocijacije na celokupnom genomu do funkcionalnih studija	122
PHACTR1 in cardiovascular disease: from genome-wide association studies to functional studies	
Jovana Kuveljić, Tamara Djurić	
Uloga ciljanih (epi)genetičkih modifikacija u potencijalnoj terapiji dijabetesa	138
The role of targeted (epi)genetic modifications in potential diabetes therapy	
Marija Đorđević, Svetlana Dinić, Mirjana Mihailović, Aleksandra Uskoković, Nevena Grdović, Jelena Arambašić Jovanović, Melita Vidaković	
Uticaj delecije gena <i>Mif</i> na razvoj gojaznosti i steatoze jetre kod miševa na režimu ishrane obogaćene fruktozom	151
The effects of deletion of the <i>Mif</i> gene on the development of obesity and hepatic steatosis in mice on fructose enriched diet	
Ljupka Gligorovska i Ana Djordjevic	
Varijante i transkripcija gena koji kodiraju komponente leptinskog signalnog puta, inflamacije i antioksidativne zaštite u patogenezi multiple skleroze	168
Variants and transcription of genes of the leptin signaling pathway, inflammation and antioxidant protection in pathogenesis of multiple sclerosis	
Ivana Kolić, Ljiljana Stojković	
Parkinsonova bolest – dokle se stiglo?	184
Parkinson's disease – state of the art	
Jadranka Miletić Vukajlović, Dunja Drakulić	
Značaj farmakogenetike u terapijskom pristupu akutnog ishemijskog moždanog udara rekombinovanim tkivnim aktivatorom plazminogena	205
Importance of pharmacogenetics for ischemic stroke therapy with recombinant tissue plasminogen activator	
Marija Dušanović Pjević	
Beta-adrenergički receptori i kinaze uključene u proces njihove nishodne regulacije u eksperimentalnom modelu kardiomiopatije izazvane doksorubicinom	218
Beta-adrenergic receptors and kinases involved in the process of their downregulation in experimental model of cardiomyopathy induced by doxorubicin	
Marija Kosić, Zorica Nešić, Nina Žigon	
Uticaj genetičkih faktora na efikasnost i toksičnost terapije metotreksatom kod pacijenata sa reumatoidnim artritisom	232
Genetic factors impacting the efficacy and toxicity of methotrexate therapy in rheumatoid arthritis patients	
Milka Grk	
Ekstrakti briofita kao imunomodulatori	245
Bryophyte extracts as immunomodulators	
Tanja Lunić, Bojan Božić, Biljana Božić Nedeljković	
Struktura, funkcija i regulacija ekspresije gena za akvaporine pri suši kod biljaka	256
Structure, function and regulation of aquaporin gene expression during drought in plants	
Marija Đurić	
Identifikacija gena za arabinogalaktanske proteine (AGP) biljaka korišćenjem metoda mašinskog učenja	269
Identification of AGP genes of plants using machine learning methods	
Danijela Paunović	

Predgovor

Prošlo je 70 godina od otkrića sekundarne strukture molekula DNK. Od tog momenta molekularna biologija se razvija neverovatnom brzinom. „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ u svakom poglavlju pokazuju fascinantne domete koje dostiže molekularna biologija našeg vremena. I Nobelove nagrade se skoro svake godine dodeljuju za postignuća iz ove naučne discipline. A naši molekularni biolozi drže korak sa modernim trendovima. Jedan od autora ovog Zbornika govori : „Bez sumnje, ono što je otkriće elektrona bilo za 20. vek to su otkrića genomike za 21. vek.“ Autori „Trendova u molekularnoj biologiji 3“ ni najmanje ne sumnjaju u to.

Ove godine TMB3 prati i suplement, Knjiga apstrakata Drugog kongresa molekularnih biologa Srbije (CoMBoS2). Pod pokroviteljstvom Srpskog društva za molekularnu biologiju, Beograd je bio 2023. godine mesto susretanja molekularnih biologa Srbije, regiona i Evrope. Doprinos Kongresu, koji su obeležila inspirativna predavanja i inovativne naučne ideje, dali su svi molekularni biolozi Srbije. Formula uspešnosti i ovde je bila aktuelna:

„Svi za jednog, jedan za svi!“

Sonja Pavlović

Iz recenzija Tematskog zbornika *Trendovi u molekularnoj biologiji*

Treći broj *Trendova u molekularnoj biologiji* predstavlja nastavak dobre prakse prikazivanja najboljih naučnih radova mladih istraživača Republike Srbije u oblasti molekularne biologije, kao i najznačajnijih otkrića i metodoloških pomaka u ovoj oblasti. Osim ovog glavnog cilja, *Trendovi* ne zaboravljaju značajne godišnjice i podsećanja na najznačajnija dostignuća i prekretnice u razvoju molekularne biologije. Tako je u ovom trećem broju prikazan jedan od temeljnih radova u ovoj oblasti – 70 godina od otkrića sekundarne strukture DNK. Radovi koji su obeležili prošlu godinu i koji su ovde prikazani odnose se na proučavanje genoma starih humanih populacija i evolucije (Nobelova nagrada za fiziologiju i medicinu 2022), a metodološki pomak je sekvenciranje dugih fragmenata DNK.

Trendovi u molekularnoj biologiji 3 svojim sadržajem u potpunosti su opravdali naziv koji nose – prikazani radovi su tematski aktuelni, inspirativni i veoma značajni u naučnom i širem društvenom smislu. Ova publikacija predstavlja svojevrsni presek stanja u molekularnoj biologiji u Srbiji i deo je napora da se prate trendovi i drži korak sa molekularnom biologijom u svetu. Zbog značaja koji ima, nadam se da će se trend objavljivanja *Trendova* nastaviti i narednih godina.

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

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ je treći 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 12 predstavljaju 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 6 poglavlja su prikazi aktuelnih tema iz molekularne biologije u kojima su naši naučnici dali svoj značajni doprinos. Uvodno poglavlje je posvećeno jubileju, sedamdesetogodišnjici od otkrića strukture molekula DNK, momentu kad je molekularna biologija krupim koracima krenula ka budućnosti, u kojoj je uz ITK tehnologije postala vodeća nauka.

Veliki broj poglavlja iz Zbornika (12) je posvećen istraživanjima iz oblasti biomedicine. To je, očigledno, najznačajnija tema za naše istraživače koji se bave molekularnom biologijom. Tu su i 3 poglavlja iz oblasti farmakogenomike, koja predstavlja najnoviji trend u medicini – personalizovana (precizna) medicina. Ova 3 rada svedoče o tome da naši naučnici prate najnovija stremljenja u medicini. Posebno treba istaći doprinos mladih istraživača iz grupe medicinskih fakulteta ovom izdanju. Čak četvoro istraživača sa Medicinskog fakulteta i jedan sa Stomatološkog fakulteta su priložili poglavlja nastala iz njihovih doktorskih disertacija. Ovo pokazuje da medicina u Srbiji prati svetske trendove. Ovaj broj Tematskog zbornika svedoči i o tome da su značajna postignuća molekularnih biologa u Srbiji donela napredak našoj medicini. Prva dva broja Tematskog zbornika „Trendovi u molekularnoj biologiji 1 i 2“ su doživela veliko interesovanje. Imala su i svoju promociju na Sajmu knjiga. Interesovanje autora da objave svoje rezultate u tematskom zborniku „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ govori da je ovaj tip publikacije nedostajao našoj naučnoj zajednici.

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

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ sadrži prikaze nekih od najznačajnijih tema u molekularnoj biologiji, počev od ovogodišnjeg jubileja - 70 godina od otkrića sekundarne strukture molekula DNK, preko odabira aktuelnosti koje su obeležile prethodnu godinu u svetu, do naučnih rezultata iz ove oblasti koje su ostvarili istraživači iz Srbije. U okviru Aktuelnih tema, sumirani su rezultati istraživanja iz oblasti fiziologije i medicine za koje je u 2022. godini dodeljena Nobelova nagrada, a odnose se na genomiku starih humanih populacija i evoluciju. Takođe, dat je i prikaz metode sekvenciranja dugih fragmenata, koja je po časopisu *Nature Methods* odabrana za metodu 2022. godine. Preostale teme su iz oblasti kojima se bave istraživači iz Srbije, a koje uključuju istraživanja iz biomedicine, farmakogenomike, kao i molekularne biologije biljaka. Važno je istaći da su mladi doktori nauka aktivno učestvovali u izradi ovog Zbornika, tako da 12 poglavlja u okviru navedenih oblasti predstavljaju revijske radove proizašle iz njihovih doktorskih disertacija odbranih u prethodnoj godini.

Značajno je da se ovaj Tematski zbornik objavljuje već treću godinu za redom, kao i to da su u njegovoj realizaciji ove godine učestvovali istraživači iz različitih naučnih instituta (3) i fakulteta (3) Univerziteta u Beogradu. Ove činjenice ohrabruju, ukazujući da u našoj zemlji postoji kontinuitet u istraživanjima u molekularnoj biologiji koja su aktuelna u svetu, uz to da su dobijeni rezultati iz ove oblasti dostupni i široj javnosti na maternjem jeziku. „Trendovi u molekularnoj biologiji 3“ je tematski zbornik u kome su objedinjeni rezultati fundamentalnih i primenjenih istraživanja u molekularnoj biologiji ostvarenih u našoj zemlji, iz tematskih oblasti koje su prepoznate i aktuelne u svetu.

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

Beta-adrenergički receptori i kinaze uključene u proces njihove nishodne regulacije u eksperimentalnom modelu kardiomiopatije izazvane doksorubicinom

Marija Kosić, Zorica Nešić, Nina Žigon

Institut za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Kontakt: marija.d.matic@med.bg.ac.rs

Apstrakt

Doksorubicin je efikasan lek u terapiji brojnih maligniteta. Međutim, njegovu upotrebu umnogome ograničava nastanak kardiotoksičnosti, koja može dovesti do kongestivne srčane insuficijencije. Mehanizmi doksorubicinske kardiotoksičnosti nisu sasvim razjašnjeni, a kada dođe do kongestivne srčane insuficijencije, stopa smrtnosti je približno 50%. Iako specifična terapija ne postoji, efikasnost su pokazali antagonisti beta-adrenergičkih receptora (β -AR). U srčanoj insuficijenciji je pokazano da kompenzatorno povećan tonus simpatikusa i cirkulišućih kateholamina dovodi do selektivne nishodne regulacije β_1 -AR, što dalje smanjuje kontraktilnu snagu srca. U procesima desenzitizacije i nishodne regulacije β -AR, važnu ulogu imaju kinaze G protein-spregnutih receptora (GRK) i aretini. Utvrđeno je da je GRK2 ushodno regulisana u nekim eksperimentalnim modelima srčane insuficijencije i da njena inhibicija sprečava štetno remodelovanje srčanog tkiva. Ovaj rad daje pregled rezultata istraživanja β -AR i procesa njihove nishodne regulacije, kao i uticaja inhibicije GRK2 na remodelovanje srca u kardiomiopatiji izazvanoj doksorubicinom.

Ključne reči: doksorubicin, kardiotoksičnost, beta-adrenergički receptor, GRK2

Beta-adrenergic receptors and kinases involved in the process of their downregulation in experimental model of cardiomyopathy induced by doxorubicin

Marija Kosić, Zorica Nešić, Nina Žigon

Institute of Pharmacology, Clinical Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine, University of Belgrade

Correspondence: marija.d.matic@med.bg.ac.rs

Abstract

Doxorubicin is an effective drug for the treatment of numerous malignancies. However, its use is greatly hampered by the occurrence of cardiotoxicity, which can lead to congestive heart failure. The mechanisms of doxorubicin cardiotoxicity are not fully understood, and when congestive heart failure occurs, the mortality rate is approximately 50%. Although there is no specific treatment for doxorubicin cardiotoxicity, beta-adrenergic receptor (β -AR) antagonists have limited efficacy. In heart failure, compensatory increased sympathetic tone and circulating catecholamines lead to selective downregulation of β_1 -AR, which further reduces the contractile force of the heart. G protein-coupled receptor kinases (GRKs) and arrestins play an important role in the processes of desensitization and downregulation of β -AR. GRK2 has been found to be up-regulated in some experimental models of heart failure and its inhibition prevents harmful remodeling of cardiac tissue. This paper provides the findings on β -AR and the process of their downregulation, as well as on the effects of GRK2 inhibition on cardiac remodeling in doxorubicin-induced cardiomyopathy.

Key words: doxorubicin, cardiotoxicity, beta-adrenergic receptor, GRK2

KARDIOMIOPATIJA IZAZVANA DOKSORUBICINOM

Sinteza doksorubicina iz bakterijskog soja *Streptomyces peucetius subsp. caesius* šezdesetih godina prošlog veka smatra se prekretnicom u lečenju solidnih i hematoloških maligniteta i kod odraslih i kod dece [1]. Međutim, doksorubicin nije selektivan za tumorske i druge visokoproliferativne ćelije, već se velikim afinitetom vezuje i za srčane ćelije i dovodi do njihovog oštećenja [2]. Kardiotoksičnost predstavlja ozbiljno neželjeno dejstvo, koje umnogome ograničava onkološku primenu doksorubicina i može dovesti do kongestivne srčane insuficijencije [3].

Akutna kardiotoksičnost nastaje kod oko 11% pacijenata tokom primene doksorubicina ili nekoliko dana po prestanku primene leka [3]. Pretpostavlja se da je u osnovi njenog nastanka edem srca [3], a najčešće se manifestuje različitim poremećajima srčanog ritma [4]. Čini se da veći zdravstveni problem predstavlja hronična tzv. odložena kardiotoksičnost, koja se najčešće javlja tokom mesec dana od prestanka primene leka, ali je njena pojava moguća i 10 godina po prestanku terapije doksorubicinom [3]. Neke retrospektivne studije pokazuju da više od polovine tretiranih bolesnika razvija lakši oblik disfunkcije leve komore srca tokom šest godina nakon prekida terapije doksorubicinom [5]. Činjenica da često nema pravovremene dijagnoze ni adekvatne prevencije i terapije, čini doksorubicinsku kardiomiopatiju smrtonosnom bolešću. Kada se razvije kongestivna srčana insuficijencija, mortalitet je približno 50% [3].

Mehanizmi nastanka odložene doksorubicinske kardiomiopatije nisu sasvim razjašnjeni. U osnovi kardiotoksičnog delovanja su slični mehanizmi kojima doksorubicin ispoljava željeno antitumorsko dejstvo (Slika 1): inhibicija topoizomeraze II β i poremećaj replikacije DNK, geneza slobodnih radikala, stvaranje kompleksa sa gvožđem, oštećenje ćelijske membrane, poremećaj transporta unutarćelijskih jona i sledstvena aktivacija signalnih puteva koji dovode do ćelijske smrti [6]. U našem istraživanju iz 2021. godine ispitivali smo promene u ekspresiji gena važnih za strukturno remodelovanje srca i inflamatorni odgovor, a koji bi mogli biti pod uticajem toksičnih doza doksorubicina [7]. Bolje razumevanje fenotipske heterogenosti doksorubicinske kardiomiopatije, moglo bi dovesti do otkrića novih molekularnih meta kardioprotektivne terapije [7].

S obzirom da su terapijske mogućnosti doksorubicinske kardiomiopatije ograničene i često neefikasne, u prvi plan se stavlja prevencija toksičnih oštećenja srca. Deksraksozan je jedini kardioprotektivni agens odobren od strane Američke uprave za hranu i lekove (engl. *Food and drug administration* – FDA) za doksorubicinsku kardiotoksičnost [6]. Kao helator gvožđa, deksrazoksan sprečava stvaranje izuzetno reaktivnog hidroksil radikala, ali i vezivanje doksorubicina za topoizomerazu II β i na taj način dovodi do inhibicije replikacije DNK u srčanim ćelijama [8]. Ostale preventivne opcije nisu specifične i obuhvataju procenu srčane funkcije pre započinjanja terapije, ograničenje kumulativne doze doksorubicina [4] i primenu nano formulacija doksorubicina, čime se lek selektivnije doprema u tumorsko tkivo [9].

Ne postoji specifična terapija za doksorubicinsku kardiomiopatiju. U kliničkoj praksi najčešće se koriste kombinacije antagonista beta-adreneričkih receptora (β -AR) i inhibitora angiotenzin-konvertujućeg enzima, koje su se pokazale najefikasnijim u sprečavanju srčanog oštećenja [10]. Odavno se u pitanje dovodi neselektivna blokada β -AR koja, iako štiti srce od prekomerene kateholaminske stimulacije sprovednog sistema, smanjuje snagu kontrakcije već oslabljenog srčanog mišića [11]. Zbog toga je važno istraživati signalne puteve specifične za određeni podtip β -AR i njihove potencijalne kliničke implikacije [12].

BETA-ADRENERGIČKI RECEPTORI U ZDRAVOM SRCU I SRČANOJ INSUFICIJENCIJI

Efekti simpatičkog nervnog sistema na srce, povećanje snage srčane kontrakcije i sprovodljivosti, primarno su posredovani β_1 -AR, dok stimulacija β_2 -AR doprinosi dodatnom povećanju srčane frekvence i kontraktilnosti [13]. Odnos β_1 -AR: β_2 -AR u zdravom srcu iznosi približno 75:25% u korist β_1 -AR [14]. Ekspresija β_3 -AR neznatna je u fiziološkim uslovima, ali se smatra da može biti povećana kod oštećenja miokarda različite etiologije. Pokazano je da β_3 -AR manje podležu procesima desenzitizacije i nishodne regulacije i da njihova stimulacija dovodi do kardioprotektivnih efekata, poput antihipertrofičnog i antioksidativnog efekta [15].

Svi podtipovi β -AR strukturno su veoma slični i pripadaju G protein-spregnutim receptorima (engl. *G protein coupled receptors* – GPCR) [13]. Ovim receptorima veliku funkcionalnu raznolikost omogućuju različiti G proteini, preko kojih se pokreće mnoštvo signalnih puteva sa najrazličitijim efektima unutar ćelije [16]. Iako su u fiziološkim uslovima β -AR primarno vezani za stimulatorni G protein (G_s), pokazano je da β_2 -AR u patološkim stanjima mogu aktivirati inhibitorni G_i signalni put i dovesti do relaksacije srčane mišićne ćelije [17]. U srčanoj insuficijenciji, kompenzatorno povećana aktivnost simpatičkog nervnog sistema i kateholaminska stimulacija β -AR dovodi do selektivne nishodne regulacije β_1 -AR, pa se odnos β_1 -AR: β_2 -AR menja na približno 50:50% [11]. Međutim, pored ovoga, u srčanoj insuficijenciji favorizovana je inhibitorna G_i signalna kaskada preko β_2 -AR, što dodatno štiti srce od kardiotoksičnih efekata prevelike kateholaminske stimulacije [18].

Zanimljivo je da β_1 -AR i β_2 -AR učestvuju u signalnim putevima sa suprotnim efektima na sudbinu srčane mišićne ćelije (Slika 2). Naime, na neonatalnim kardiomiocitima pacova [19] i adultnim kardiomiocitima miševa [20], pokazano je da stimulacija β_1 -AR pokreće proapoptotske signalne puteve. Sa druge strane, stimulacija β_2 -AR spregnutih sa G_i štiti srčane ćelije od apoptoze [17]. Podela β -AR na „kardiotoksične“ β_1 -AR i „kardioprotektivne“ β_2 -AR u nastanku srčane insuficijencije smatra se kontroverznom i uprošćenom. Na ulogu β -AR u patofiziološkom procesu utiče, ne samo etiološki faktor koji je doveo do srčane insuficijencije (ishemija, opterećenje pritiskom, toksini), već i dužina trajanja patološkog procesa (akutni/hronični) [11]. Ipak, poznavanje signalnih puteva specifičnih za određeni podtip β -AR moglo bi otkriti potencijalne nove mete u terapiji srčane insuficijencije.

BETA-ADRENERGIČKI RECEPTORI U DOKSORUBICINSKOJ KARDIOMIOPATIJI

U različitim eksperimentalnim modelima kardiomiopatije izazvane doksorubicinom dobijeni su oprečni rezultati ekspresije β_1 -AR i β_2 -AR [21, 22, 23] što bismo mogli objasniti razlikama u eksperimentalnim životinjama, dozi doksorubicina, doznom režimu i načinu aplikacije leka. U našim prethodnim istraživanjima [7, 24] ekspresija gena za β_1 -AR i β_2 -AR nije bila promenjena, u skladu sa nalazom nepromenjene gustine ovih receptora iz istraživanja Robisona i Girija na subkutanom modelu doksorubicinske kardiomiopatije [23]. Međutim, iako je gustina β -AR ostala očuvana, pokazan je smanjen afinitet β -AR za kateholamine i posledično smanjena kontraktilna snaga srčanog mišića [23].

U našem istraživanju iz 2019. godine, na peritonealnom modelu doksorubicinske kardiomiopatije kod pacova *Wistar* soja, u kompenzovanoj fazi kardiomiopatije (35 dana nakon aplikacije doksorubicina) izmerena je povećana ekspresija gena za β_1 -AR, dok se ekspresija gena za β_2 -AR nije statistički značajno promenila [22]. U dekompenzovanoj fazi kardiomiopatije (70 dana nakon aplikacije doksorubicina) nismo izmerili značajne promene genske ekspresije β_1 -AR i β_2 -AR [22]. „Prolazno“ povećanje ekspresije gena za β_1 -AR moglo bi sugerisati da su oni odgovorni za povećanu osetljivost srčanog mišića na kateholamine i povećani varijabilitet srčane frekvencije, dobijen u ovom istraživanju [22]. Ovakvi nalazi u skladu su sa

rezultatima studija na β_1 -AR $-/-$ nokaut miševima, β_2 -AR $-/-$ nokaut miševima i dvostrukim β_1 -AR / β_2 -AR $-/-$ nokaut miševima [25, 26], koji pokazuju da β_1 -AR posreduju u kardiotoksičnim mehanizmima doksorubicina, dok β_2 -AR imaju zaštitnu ulogu. Takođe, povećana ekspresija β_1 -AR mogla bi biti ključna za razvoj hipertrofične kardiomiopatije [26, 27, 28], koja često prethodi sistolnoj disfunkciji srca tj. dilataciji [21].

Studija na *Sprague-Dawley* pacovima tretiranim sa 6 intraperitonealnih injekcija u dozi 2,5 mg/kg doksorubicina, pokazala je remodelovanje ekspresije i funkcije β -AR. Tri nedelje nakon poslednje injekcije doksorubicina, genska i proteinska ekspresija β_3 -AR bila je nepromenjena, dok je u kasnijoj fazi kardiomiopatije (nakon 70 dana) ekspresija β_3 -AR bila smanjena [21], što nije u skladu sa rezultatima Sun i saradnika [29]. Pokazana je povećana proteinska ekspresija β_2 -AR 35. dana nakon prve doksorubicinske injekcije, dok je proteinska ekspresija β_1 -AR bila smanjena i 35. i 70. dana nakon prve doksorubicinske injekcije [21], u skladu sa promenjenim odnosom β_1 -AR: β_2 -AR u srčanoj insuficijenciji [30]. Zanimljivo je da smanjena β_1 -AR ekspresija u ranoj fazi kardiomiopatije nije oštetila funkciju ovih receptora, što se može objasniti nepromenjenom ekspresijom Gsa i povećanom ekspresijom adenilat-ciklaze [21]. Ovakav rezultat je u kontrastu sa nalazima izmenjene signalne transdukcije preko β -AR sa smanjenom aktivnošću adenilat-ciklaze na različitim modelima doksorubicinske kardiomiopatije [31, 32]. Pojačana β_2 -AR/ G_s signalizacija povezana je sa očuvanom kontraktilnom funkcijom srca u studiji Merlet i saradnika, ali je i dalje nejasno da li ovo predstavlja koristan kompenzatorni ili štetni mehanizam [21].

S obzirom da i ekspresija gena za β -AR i njihova nishodna regulacija mogu menjati gustinu receptora na srčanim ćelijama, deo našeg istraživanja posvetili smo merenju ekspresije ključnih molekula uključenih u procese desenzitizacije i nishodne regulacije GPCR: kinaza GPCR (engl. *G protein-coupled receptor kinase* – GRK) i arestina [33].

KINAZE G PROTEIN-SPREGNUTIH RECEPTORA

GRK predstavljaju veliku porodicu serin/treonin-kinaza i, zajedno sa arestinima, učestvuju u procesu nishodne regulacije različitih GPCR [34]. Pored ove tzv. kanonske uloge u desenzitizaciji i internalizaciji GPCR, pokazano je da su ove kinaze uključene u brojne interakcije sa signalnim proteinima u ćeliji i da imaju mnogostruke efektorske uloge, nezavisno od GPCR [35].

Najzastupljenije GRK u srčanom tkivu su kinaze β -AR (GRK2 i GRK3) (Slika 3) i membranske kinaze GRK5 i GRK6 (Yi i saradnici, 2005). Citoplazmatski proteini GRK2 i GRK3 fosforilišu GPCR aktivirane agonistima, na reziduama serina i treonina i omogućavaju vezivanje arestina 2 (β -arestin 1) i arestina 3 (β -arestin 2) [36]. Arestini se velikim afinitetom vezuju jedino za receptore okupirane agonistima i fosforilisane ovim kinazama, i vrše sternu inhibiciju vezivanja G proteina [36]. Takođe, oni predstavljaju adapterske proteine za povezivanje sa elementima endocitotskog kompleksa i tako učestvuju u klatrinom posredovanoj internalizaciji fosforilisanog receptora [35] (Slika 4). Dalja sudbina receptora može biti njegova degradacija u lizozomima ili vraćanje na površinu ćelijske membrane – recikliranje receptora. Smatra se da upravo od jačine arestin-receptor interakcije zavisi u kom će smeru ići sudbina receptora (klasa A i klasa B GPCR) [37]. Receptori iz klase A (npr. β_2 -AR) internalizuju u ćeliju procesom endocitoze posredovane klatrinskim vezikulama, ali se brzo disociraju od arestina 2, „recikliraju“ i vraćaju na površinu ćelijske membrane. Sa druge strane, klasa B GPCR (npr. receptor za angiotenzin tip 1A, receptor za vazopresin tip V2) sa jednakim afinitetom aktivira arestin 1 i arestin 2 te dolazi do formiranja stabilnih kompleksa unutar endocitotske vezikule i degradacije receptora [37].

Membranske kinaze GRK5 i GRK6 fosforilišu receptore okupirane agonistom i, za razliku od GRK2 i GRK3, stimulišu arestinom-posredovanu signalnu transdukciju u ćeliji, pre nego arestinom-posredovanu desenzi-

tizaciju i internalizaciju receptora [38]. GRK2 se često označava kao interaktom jer moduliše različite efekte na nivou ćelije, nezavisno od fosforilacije GPCR [34] (Slika 5). Stupajući u interakcije sa mnogobrojnim proteinima uključenim u signalne kaskade, GRK2 kontroliše produkciju hemokina [39], učestvuje u procesima organizacije citoskeleta i migracije ćelija [40], ali i inhibira apoptozu posredovanu faktorom transformacije rasta beta (engl. *transforming growth factor beta* – TGF- β) [14]. Činjenica da je GRK2 „čvor“ signalne mreže u srčanoj ćeliji i da promene njene ekspresije i/ili aktivnosti mogu imati važne efekte na razvoj kardiovaskularnih bolesti kod ljudi, čini ovu kinazu potencijalno važnim dijagnostičkim markerom i terapijskom metom [34].

GRK2 i GRK3 U DOKSORUBICINSKOJ KARDIOMIOPATIJI

U tkivu srca citosolna GRK2 predstavlja najzastupljeniju izoformu i glavni je regulator srčane kontraktilnosti i frekvencije posredovane β -AR [41]. GRK3 izgleda ima veći afinitet za endotelinske receptore i alfa-adrenergički receptor 1 (α 1-AR), što ovu kinazu čini primarnim kontrolorom signalnih puteva rasta i preživljavanja kardiomiocita [42].

Pre našeg istraživanja, jedino su Sun i saradnici na modelu doksorubicinske kardiomiopatije ispitivali kako kastracija i terapija testosteronom utiču na β -AR i proces njihove nishodne regulacije [29]. Međutim, u drugim modelima srčane insuficijencije kod životinja [41, 43] i ljudi [44], signalni put nishodne regulacije β -AR više je izučavan i izmerena je povećana ekspresija GRK2. Smatra se da povećana aktivnost simpatičkog nervnog sistema u srčanoj insuficijenciji predstavlja rani okidač za porast GRK2, koji dovodi do desenzitizacije i nishodne regulacije β -AR i tako štiti srce od toksičnih efekata kateholamina [45]. Ovo predstavlja odbrambeni mehanizam samo u početnoj fazi bolesti, dok dugotrajna desenzitizacija β -AR i smanjenje njihovog broja na membrani kardiomiocita uzrokuju slabljenje kontraktilne snage srca i dalje propadanje srčanog mišića [46]. Kao regulator signalne transdukcije u ćeliji, nezavisno od fosforilacije β -AR, GRK2 može proizvesti dodatne štetne efekte u srčanoj insuficijenciji poput aktivacije proapoptotskih signalnih kaskada [47], poremećaja unutarćelijskog prometa Ca^{2+} [48] i smanjenog preuzimanja glukoze u kardiomiocite [49].

U našem istraživanju nismo izmerili promene u ekspresiji gena za GRK2, GRK3, arestin 2 i arestin 3 kod pacova tretiranih doksorubicinom koji su razvili dilatacionu kardiomiopatiju (engl. *dilated cardiomyopathy* – DCM) [24]. Međutim, kod pacova sa hipertrofičnom kardiomiopatijom (engl. *hypertrophic cardiomyopathy* – HCM), statistički je značajno bila povećana genska ekspresija i imunoreaktivnost GRK2 i GRK3 u srčanom tkivu [24]. Kako je u HCM ekspresija β -AR ostala nepromenjena, a srčana funkcija očuvana (nepromenjena ejekciona frakcija leve komore), može se pretpostaviti da porast genske ekspresije i sinteze GRK2 nije povezan sa nishodnom regulacijom β -AR, već da ima neke nekanonske funkcije u ćeliji [24]. Ovakav nalaz u skladu je sa otkrićem da GRK2 pokreće signalni put važan za nastanak hipertrofije kardiomiocita, potencijalno aktivirajući aktivnost ključnog hipertrofičnog faktora – nuklearnog faktora aktiviranih T ćelija (engl. *nuclear factor of activated T-cells* – NFAT) [41]. Pokazana snažna povezanost između ekspresije GRK2 i relativne debljine zida miokarda, merene ehokardiografski, u našem istraživanju dodatno govori u prilog da povećana ekspresija i sinteza GRK2 doprinose nastanku hipertrofične kardiomiopatije [24]. I povećana ekspresija GRK3 mogla bi imati ulogu u signalnim putevima rasta kardiomiocita, nezavisnim od β -AR, a u skladu sa prethodnim istraživanjem na transgenim miševima [42].

INHIBICIJA GRK2 KAO POTENCIJALNA TERAPIJSKA MOGUĆNOST U PREVENCIJI I LEČENJU DOKSORUBICINSKE KARDIOMIOPATIJE

Pored toga što se povećan nivo GRK2 smatra novim ranim biomarkerom srčane insuficijencije kod ljudi [50], inhibicija ove kinaze mogla bi predstavljati terapijsku metu sa potencijalno značajnim uticajem na progresiju i ishod ovog oboljenja [51]. Tome u prilog govore rezultati različitih istraživanja u kojima je primena GRK2 inhibitora sprečila štetno remodelovanje miokarda i povećala preživljavanje eksperimentalnih životinja [51, 52], poboljšala metaboličke funkcije, organizaciju i funkciju mitohondrija i kontraktilni odgovor srčane mišićne ćelije [53]. GRK2 se navodi i kao nova obećavajuća meta u terapiji srčane hipertrofije [41], koja često prethodi dilataciji i padu ejeckione frakcije leve komore srca [21].

Endogeni GRK2 inhibitor (β ARKct) sadrži poslednjih 194 aminokiselina C-terminusa GRK2 i takmiči se sa GRK2 u vezivanju za G $\beta\gamma$ subjedinicu [54]. Kako je GRK2 glavni negativni regulator prokontraktilne signalizacije u miokardu, njenom inhibicijom, obnavlja se srčana inotropna rezerva posredovana β -AR [55, 56]. Pokazano je da je kardiospecifična inhibicija GRK2 transferom gena za β ARKct uz pomoć virusnih vektora, efikasno oporavljala funkciju srca u ćelijskim i animalnim modelima srčane insuficijencije, te je za očekivati bilo da primena selektivnih GRK2 inhibitora potencijalno ima klinički značaj u terapiji kardiovaskularnih oboljenja [57].

Razvoj inhibitora određenih izoenzima GRK otežan je nedostatkom selektivnosti i nepovoljnim farmakokinetičkim osobinama ispitivanih supstanci [57]. Međutim, kristalografska analiza pokazala je da se paroksetin, antidepresiv iz grupe selektivnih inhibitora preuzimanja serotonina (engl. *selective serotonin reuptake inhibitor* – SSRI), vezuje za aktivno mesto GRK2 i inhibira ga sa oko 50 puta većom selektivnošću u odnosu na druge GRK izoforme [58]. Paroksetin je efikasan lek u terapiji depresije, ima dobru bioraspodobilnost nakon oralne primene i povoljna farmakokinetička svojstva [59]. S obzirom na relativno malu molekulska masu, predstavlja dobru polaznu tačku za racionalni dizajn sličnih GRK inhibitora [58]. Različita jedinjenja koja povećavaju tačku topljenja GRK2 i/ili GRK5 ispituju se od strane Konzorcijuma za strukturnu genomiku Univerziteta Oksford i razvijaju kao novi GRK inhibitori [57].

U našem istraživanju kao GRK2 inhibitor koristili smo paroksetin i davali ga pacovima peroralnim putem u dozi od 10mg/0,5 mL/kg/dan, 5 dana pre aplikacije doksorubicina i tokom celog perioda praćenja eksperimentalnih životinja. Doza paroksetina određena je u pilot eksperimentima u našoj laboratoriji, u kojima je pokazano da je paroksetin statistički značajno smanjio gensku ekspresiju GRK2 samo u dozi od 10 mg/kg/dan [24]. Pacovi kod kojih je istovremeno primenjen doksorubicin i GRK2 inhibitor bili su dobrog opšteg stanja, sa medijanom preživljavanja kao kod pacova iz kontrolne grupe, a ehokardiografski nalaz pokazao je očuvanu morfologiju i funkciju leve komore srca [24].

Pokazali smo da paroksetin smanjuje ekspresiju i sintezu GRK2 i GRK3 kod pacova tretiranih doksorubicinom, što bi moglo imati opisane povoljne efekte na progresiju srčane insuficijencije. Inhibicija GRK2 sprečava maladaptivnu desenzitizaciju β -AR, ali i pokretanje signalnog puta hipertrofije srca [41]. Pokazano je da paroksetin dodatno doprinosi smanjujući ekspresiju gena za srčani marker hipertrofije – miozinski teški lanac 7 (engl. *myosin heavy chain 7* – MYH7) i gena za markere fibroze poput faktora rasta vezivnog tkiva (engl. *connective tissue growth factor* – CTGF) i kolagena I [60]. I na izolovanim srčanim ćelijama izmerena je povećana amplituda kontrakcije i izoproterenolom-indukovano skraćanje u prisustvu paroksetina, a tretman paroksetinom pre davanja izoproterenola, značajno je povećao inotropnu rezervu leve komore srca miševa *in vivo* [58]. Smatra se da paroksetin smanjenjem internalizacije β -AR i stabilizacijom njihove aktivnosti poboljšava efekat antagonista β -AR u lečenju srčane insuficijencije kod osoba sa smanjenom osetljivošću na ovu terapiju [60].

U našem istraživanju, paroksetin je povećao gensku ekspresiju i sintezu β_1 -AR i β_2 -AR u srčanom tkivu pacova tretiranih doksorubicinom, što nije uočeno kod pacova tretiranih samo paroksetinom [24]. Ovakav nalaz mogao bi predstavljati zaštitni mehanizam u očuvanju kontraktilne rezerve srca. Ranije studije pokazale su da paroksetin smanjuje cirkulišuće nivoe kateholamina, renina i aldosterona kod spontano hipertenzivnih pacova, kao i da povećava odgovor β -AR na kateholamine [60]. Smanjenje nivoa cirkulišućih kateholamina paroksetinom predstavlja finu neuroendokrinu modulaciju bolesti, uz očuvanje inotropne rezerve srca posredovane β -AR [61].

Naši rezultati pokazuju da kod pacova kotretiranih paroksetinom i doksorubicinom postoji značajna povezanost između genske ekspresije β_1 -AR i GRK2, kao i između β_2 -AR i GRK2, u skladu sa rezultatom iz studije Monto i saradnika [62]. Na osnovu ovih korelacija, moglo bi se pretpostaviti da je GRK2 uglavnom odgovorna za fosforilaciju i posledičnu nishodnu regulaciju β -AR. Činjenica da genska ekspresija GRK3 nije povezana sa ekspresijom ni β_1 -AR ni β_2 -AR, može se tumačiti kao nedostatak zajedničkog regulatornog mehanizma [24].

Moguće je da paroksetin različitim mehanizmima od inhibicije nishodne regulacije β -AR dodatno doprinosi smanjenju doksorubicinske kardiotoksičnosti. Na modelu endotelne disfunkcije pokazano je da smanjuje stvaranje superoksidnih radikala u mitohondrijama [63]. S obzirom da GRK2 često označavaju „kinazom smrti“ (engl. *pro-death kinase*) [47, 64] jer pokreće proapoptotske signalne puteve u ćeliji i da je nishodna regulacija GRK2 imala povoljne antiapoptotske efekte usled povećanja nivoa antiapoptotskih proteina poput Bcl-2 i Bcl-xl u srčanom tkivu [64], možemo pretpostaviti da inhibicija GRK2 pod uticajem paroksetina antioksidativnim mehanizmom doprinosi smanjenju kardiotoksičnosti doksorubicina.

ZAKLJUČAK

Kardiotoksičnost doksorubicina predstavlja veliki izazov jer umnogome ograničava njegovu primenu u lečenju maligniteta, a postojeće preventivne i terapijske opcije ograničene su, nespecifične i često neefikasne. Zbog toga je traganje za novim molekularnim metama jedna od strategija povećanja bezbednosti primene doksorubicina. Važna karakteristika kardiomiopatije izazvane doksorubicinom je remodelovanje ekspresije i funkcije β -AR. Selektivna nishodna regulacija β_1 -AR posredovana GRK2 doprinosi štetnom remodelovanju srca pa se inhibicija GRK2 nameće kao nova potencijalna meta sa značajnim uticajem na progresiju i ishod srčane insuficijencije. Primena antidepresiva paroksetina, selektivnog GRK2 inhibitora, ima potencijalne kardioprotektivne efekte kod doksorubicinske kardiomiopatije i sugeriše repozicioniranje ovog leka za prevenciju/terapiju doksorubicinske kardiomiopatije kod pacijenata sa malignitetima. Činjenica da je depresija čest komorbiditet kod obolelih od tumora, dodatno ohrabruje evaluaciju kardioprotektivnih efekata paroksetina kod onkoloških pacijenata izloženih velikim, kardiotoksičnim dozama doksorubicina.

ZAHVALNICA

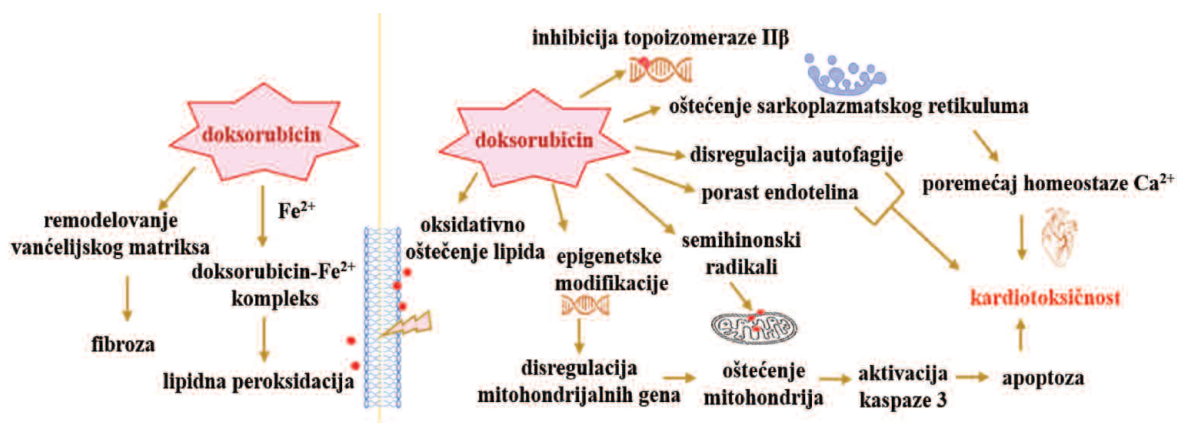
Izrada ovog rada je omogućena zahvaljujući projektu Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije broj 200110.

LITERATURA

1. Arcamone F, Cassinelli G, Fantini G, Grein A, Orezzi P, Pol C, et al. Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *S. peucetius* var. *caesius*. *Biotechnol Bioeng* 1969; 11(6):1101–1110.
2. Wang Y, Probin V, Zhou D. Cancer therapy-induced residual bone marrow injury-Mechanisms of induction and implication for therapy. *Curr Cancer Ther Rev* 2006; 2(3):271-279.
3. Chatterjee K, Zhang J, Honbo N and Karliner JS. Doxorubicin cardiomyopathy. *Cardiology* 2010; 115(2): 155–162.
4. Takemura G, Fujiwara H. Doxorubicin-Induced Cardiomyopathy: From the Cardiotoxic Mechanisms to Management. *Prog Cardiovasc Dis* 2007; 49(5):330-352.
5. Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer* 2003; 97(11):2869-2879.
6. Corremans R, Adão R, De Keulenaer GW, Leite-Moreira AF, Brás-Silva C. Update on pathophysiology and preventive strategies of anthracycline-induced cardiotoxicity. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2019; 46(3):204-215.
7. Pajović V, Kováčsházi C, Kosić M, Vasić M, Đukić Lj, Brenner GB, Giricz Z, Bajić D, Ferdinandy P, Japundžić-Žigon N. Phenomapping for classification of doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2021; 423:115579.
8. Menna P, Salvatorelli E. Primary prevention strategies for anthracycline cardiotoxicity: a brief overview. *Chemotherapy* 2017; 62(3):159–168.
9. Salvatorelli E, Menna P, Cantalupo E, Chello M, Covino E, Wolf FI, et al. The concomitant management of cancer therapy and cardiac therapy. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1848(10PtB):2727–2737.
10. Octavia Y, Tocchetti CG, Gabrielson KL, Janssens S, Crijns HJ, Moens AL. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: from molecular mechanisms to therapeutic strategies. *J Mol Cell Cardiol* 2012; 52(6):1213-25.
11. Bristow M, Ginsburg R, Umans V, Fowler M, Minobe W, Rasmussen R et al. β 1- and β 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective down-regulation in heart failure. *Circ Res* 1986; 59:297–309.
12. Xiao RP, Zhu W, Zheng M, Chakir K, Bond R, Lakatta EG, Cheng H. Subtype-specific beta-adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25(7):358-65.
13. Bernstein D, Fajardo G, Zhao M. The role of β -adrenergic receptors in heart failure: Differential regulation of cardiotoxicity and cardioprotection. *Prog Pediatr Cardiol* 2011; 31(1): 35–38.
14. Ho D, Yan L, Iwatsubo K, Vatner DE, Vatner SF. Modulation of β -Adrenergic Receptor Signaling in Heart Failure and Longevity: Targeting Adenylyl Cyclase Type 5. *Heart Fail Rev* 2010;15(5): 495–512.
15. Kayki-Mutlu G, Karaomerlioglu I, Arioglu-Inan E, Altan VM. Beta-3 adrenoceptors: A potential therapeutic target for heart disease. *Eur J Pharmacol* 2019; 858:172468.
16. Zhao J, Deng Y, Jiang Z, Qing H. G Protein-Coupled Receptors (GPCRs) in Alzheimer's Disease: A Focus on BACE1 Related GPCRs. *Front Aging Neurosci* 2016; 8:58.
17. Xiao RP, Zhu W, Zheng M, Chakir K, Bond R, Lakatta EG, et al. Subtype-specific beta-adrenoceptor signaling pathways in the heart and their potential clinical implications. *Trends Pharmacol Sci* 2004; 25(7):358-365.
18. Daaka Y, Luttrell LM, Lefkowitz RJ. Switching of the coupling of the beta2-adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A. *Nature* 1997; 390(6655):88-91.
19. Chesley A, Lundberg MS, Asai T, Xiao RP, Ohtani S, Lakatta EG, et al. The beta(2)-adrenergic receptor delivers an antiapoptotic signal to cardiac myocytes through G(i)-dependent coupling to phosphatidylinositol 3'-kinase. *Circ Res* 2000; 87(12):1172-1179.
20. Zhu WZ, Zheng M, Koch WJ, Lefkowitz RJ, Kobilka BK, Xiao RP. Dual modulation of cell survival and cell death by beta(2)-adrenergic signaling in adult mouse cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98(4):1607-1612.
21. Merlet N, Piriou N, Rozec B, Grabherr A, Lauzier B, Trochu JN, et al. Increased beta2-adrenoceptors in doxorubicin-induced cardiomyopathy in rat. *Plos One* 8 2013; 8(5): e64711.
22. Vasić M, Lončar-Turukalo T, Tasić T, Matić M, Glumac S, Bajić D, et al. Cardiovascular variability and β -ARs gene expression at two stages of doxorubicin - Induced cardiomyopathy. *Toxicol Appl Pharmacol* 2019; 362:43-51.
23. Robison TW, Giri SN. Effects of chronic administration of doxorubicin on myocardial beta-adrenergic receptors. *Life Sci* 1986; 39(8):731-6.
24. Kosić M, Nešić Z, Glumac S, Vasić M, Pajović V, Savić B, et al. Paroxetine mitigates cardiac remodelling by doxorubicin and increases survival. *Biomed Pharmacother* 2022;145:112411.

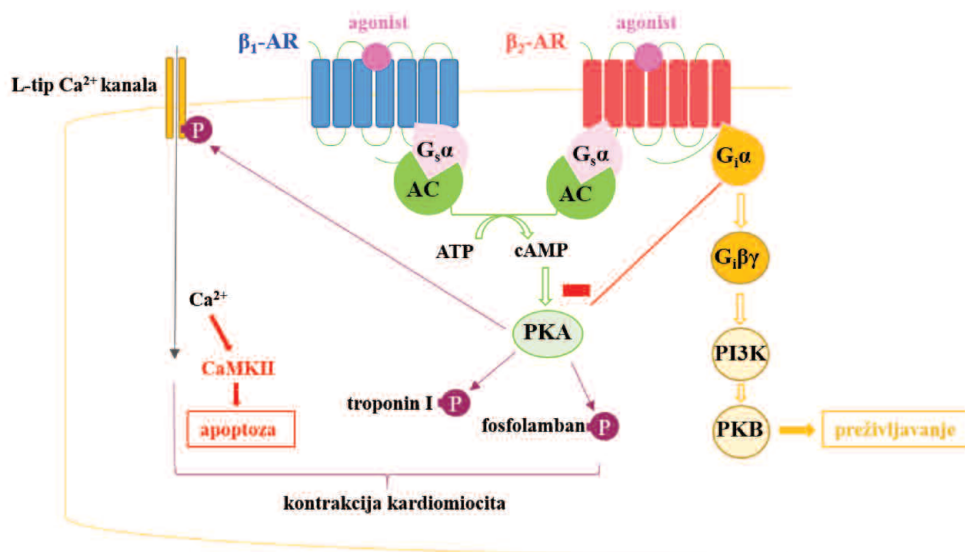
25. Bernstein D, Fajardo G, Zhao M, Urashima T, Powers J, Berry G, et al. Differential cardioprotective/cardiotoxic effects mediated by beta-adrenergic receptor subtypes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005; 289(6):H2441-9.
26. Fajardo G, Zhao M, Powers J, Bernstein D. Differential cardiotoxic/cardioprotective effects of beta-adrenergic receptor subtypes in myocytes and fibroblasts in doxorubicin cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 2006; 40(3):375-83.
27. Milano CA, Allen LF, Rockman HA, Dolber PC, McMinn TR, Chien KR et al. Enhanced myocardial function in transgenic mice overexpressing the beta 2-adrenergic receptor. *Science* 1994; 264(5158):582-6.
28. Engelhardt S, Hein L, Dyachenkov V, Kranias EG, Isenberg G, Lohse MJ. Altered calcium handling is critically involved in the cardiotoxic effects of chronic beta-adrenergic stimulation. *Circulation* 2004; 109(9):1154-60.
29. Sun J, Fu L, Tang X, Han Y, Ma D, Cao J, Kang N, et al. Testosterone modulation of cardiac β -adrenergic signals in a rat model of heart failure. *Gen Comp Endocrinol* 2011; 172(3):518-25.
30. Kenk M, Thackeray JT, Thorn SL, Dhimi K, Chow BJ, Ascah KJ, et al. Alterations of pre- and postsynaptic noradrenergic signaling in a rat model of adriamycin-induced cardiotoxicity. *J Nucl Cardiol* 2010; 17(2):254-63.
31. Calderone A, de Champlain J, Rouleau JL. Adriamycin-induced changes to the myocardial beta-adrenergic system in the rabbit. *J Mol Cell Cardiol* 1991; 23(3):333-42.
32. Nagami K, Yoshikawa T, Suzuki M, Wainai Y, Anzai T, Handa S. Abnormal beta-adrenergic transmembrane signaling in rabbits with adriamycin-induced cardiomyopathy. *Jpn Circ J* 1997; 61(3):249-55.
33. Najafi A, Sequeira V, Kuster DWD, van der Velden J. β -adrenergic receptor signalling and its functional consequences in the diseased heart. *Eur J Clin Invest* 2016; 46(4):362-7.
34. Penela P, Murga C, Ribas C, Lafarga V, Mayor Jr F. The complex G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2) interactome unveils new physiopathological targets. *Br J Pharmacol* 2010; 160(4): 821–832.
35. Reiter E, Lefkowitz RJ. GRKs and beta-arrestins: roles in receptor silencing, trafficking and signaling. *Trends Endocrinol Metab* 2006; 17(4):159-165.
36. Shenoy SK, Lefkowitz RJ. Multifaceted roles of beta-arrestins in the regulation of seven-membrane-spanning receptor trafficking and signalling. *Biochem J* 2003; 375(Pt 3):503-515.
37. Oakley RH, Laporte SA, Holt JA, Caron MG, Barak LS. Differential affinities of visual arrestin, beta arrestin1, and beta arrestin2 for G protein-coupled receptors delineate two major classes of receptors. *J Biol Chem* 2000; 275(22):17201-17210.
38. Kim J, Ahn S, Ren XR, Whalen EJ, Reiter E, Wei H, et al. Functional antagonism of different G protein-coupled receptor kinases for beta-arrestin-mediated angiotensin II receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(5):1442-1447.
39. Jiménez-Sainz MC, Murga C, Kavelaars A, Jurado-Pueyo M, Krakstad BF, Heijnen CJ, et al. G protein-coupled receptor kinase 2 negatively regulates chemokine signaling at a level downstream from G protein subunits. *Mol Biol Cell* 2006;17(1):25-31.
40. Penela P, Ribas C, Aymerich I, Eijkelkamp N, Barreiro O, Heijnen CJ, et al. G protein-coupled receptor kinase 2 positively regulates epithelial cell migration *EMBO J* 2008; 27(8):1206-1218.
41. Schlegel P, Reinkober J, Meinhardt E, Tscheschner H, Gao E, Schumacher SM, et al. G protein-coupled receptor kinase 2 promotes cardiac hypertrophy. *PLoS One* 2017; 12(7):e0182110.
42. Eckhart AD, Duncan SJ, Penn RB, Benovic JL, Lefkowitz RJ, Koch WJ. Hybrid transgenic mice reveal in vivo specificity of G protein-coupled receptor kinases in the heart. *Circ Res* 2000; 86(1):43-50.
43. Yi XP, Gerdes AM, Li F. Myocyte redistribution of GRK2 and GRK5 in hypertensive, heart-failure-prone rats. *Hypertension* 2002; 39(6):1058-1063.
44. Ungerer M, Böhm M, Elce JS, Erdmann E, Lohse. Altered expression of β -adrenergic receptor kinase and β 1-adrenergic receptors in the failing human heart. *Circulation* 1993; 87(2):454–463.
45. Petrofski JA, Koch WJ. The beta-adrenergic receptor kinase in heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 2003; 35(10):1167-1174.
46. Vasić M, Japundžić Žigon N. GRK-2 inhibitor lek kandidat u terapiji srčane insuficijencije. *Srce i krvni sudovi* 2013; 32(4): 304-308.
47. Chen M, Sato PY, Chuprun JK, Peroutka RJ, Otis NJ, Ibeti J, Pan S, et al. Prodeath signaling of G protein-coupled receptor kinase 2 in cardiac myocytes after ischemic stress occurs via extracellular signal-regulated kinase-dependent heat shock protein 90-mediated mitochondrial targeting. *Circ Res* 2013; 112(8):1121-1134.
48. Raake PW, Zhang X, Vinge LE, Brinks H, Gao E, Jaleel N, et al. Cardiac G-protein-coupled receptor kinase 2 ablation induces a novel Ca²⁺ handling phenotype resistant to adverse alterations and remodeling after myocardial infarction. *Circulation* 2012; 125(17):2108-18.
49. Ciccarelli M, Chuprun JK, Rengo G, Gao E, Wei Z, Peroutka RJ, et al. G protein-coupled receptor kinase 2 activity impairs cardiac glucose uptake and promotes insulin resistance after myocardial ischemia. *Circulation* 2001; 123(18):1953-62.

50. Iaccarino G, Barbato E, Cipolletta E, De Amicis V, Margulies KB, Leosco D, et al. Elevated myocardial and lymphocyte GRK2 expression and activity in human heart failure. *Eur Heart J* 2005; 26(17):1752-1758.
51. Rockman HA, Chien KR, Choi DJ, Iaccarino G, Hunter JJ, Ross J Jr, et al. Expression of a β -adrenergic receptor kinase 1 inhibitor prevents the development of myocardial failure in gene-targeted mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(12):7000-7005.
52. Cannavo A, Komici K, Bencivenga L, D'amico ML, Gambino G, Liccardo D, et al. GRK2 as a therapeutic target for heart failure. *Expert Opin Ther Targets* 2018; 22(1):75-83.
53. Ciccarelli M, Sorriento D, Fiordelisi A, Gambardella J, Franco A, Del Giudice C, et al. Pharmacological inhibition of GRK2 improves cardiac metabolism and function in experimental heart failure. *ESC Heart Fail* 2020; 7(4):1571-1584.
54. Bledzka KM, Manaserh IH, Grondolsky J, Pflieger J, Roy R, Gao E, et al. A peptide of the amino-terminus of GRK2 induces hypertrophy and yet elicits cardioprotection after pressure overload. *J Mol Cell Cardiol* 2021; 154:137-153.
55. Rengo G, Lympereopoulos A, Koch WJ. Future G protein-coupled receptor targets for treatment of heart failure. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2009; 11:328-338.
56. Salazar NC, Vallejos X, Siryk A, Rengo G, Cannavo A, Liccardo D, et al. GRK2 blockade with β ARKct is essential for cardiac β 2-adrenergic receptor signaling towards increased contractility. *Cell Commun Signal* 2013; 11:64.
57. Homan KT, Larimore KM, Elkins JM, Szklarz M, Knapp S, Tesmer JGG. Identification and structure-function analysis of subfamily selective G protein-coupled receptor kinase inhibitors. *ACS Chem Biol* 2015; 10(1):310-319.
58. Thal DM, Homan KT, Chen J, Wu EK, Hinkle PM, Huang ZM, et al. Paroxetine Is a Direct Inhibitor of G Protein-Coupled Receptor Kinase 2 and Increases Myocardial Contractility. *ACS Chem Biol* 2012; 7(11): 1830-1839
59. Bourin M, Chue P, Guillon Y. Paroxetine: a review. *CNS Drug Rev* 2001; 7(1):25-47.
60. Sun X, Zhou M, Wen G, Huang Y, Wu J, Peng L, et al. Paroxetine Attenuates Cardiac Hypertrophy Via Blocking GRK2 and ADRB1 Interaction in Hypertension. *J Am Heart Assoc* 2021; 10(1):e016364.
61. Schumacher SM, Gao E, Zhu W, Chen X, Chuprun JK, Feldman AM, et al. Paroxetine-mediated GRK2 inhibition reverses cardiac dysfunction and remodeling after myocardial infarction. *Sci Transl Med* 2015; 7(277):277ra31.
62. Montó F, Oliver E, Vicente D, Buendía F, Rueda J, Agüero J, et al. β 2- and β 1-Adrenoceptor Expression Exhibits a Common Regulatory Pattern With GRK2 and GRK5 in Human and Animal Models of Cardiovascular Diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 2015; 66(5):478-486.
63. Gerö D, Szoleczky P, Suzuki K, Módis K, Oláh G, Coletta C, et al. Cell-based screening identifies paroxetine as an inhibitor of diabetic endothelial dysfunction. *Diabetes* 2013; 62(3):953-964.
64. Fan Q, Chen M, Zuo L, Shang X, Huang MZ, Ciccarelli M, et al. Myocardial Ablation of G Protein-Coupled Receptor Kinase 2 (GRK2) Decreases Ischemia/Reperfusion Injury through an Anti-Intrinsic Apoptotic Pathway. *PLoS One* 2013; 8(6):e66234.



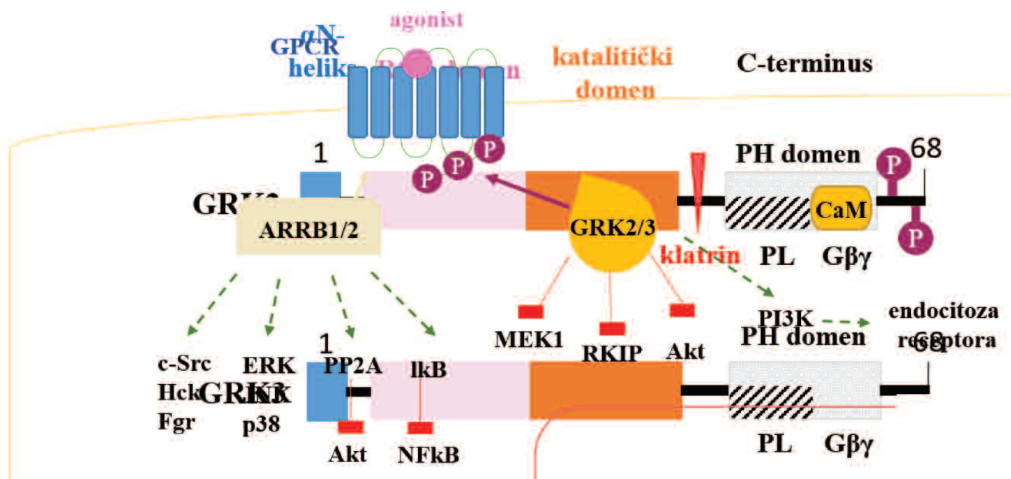
Slika 1. Shematski prikaz mehanizama doksorubicine kardiotoksičnosti izvan i unutar ćelije.

Preuzeto iz doktorske disertacije Kosić, 2022; modifikovano iz Rawat i saradnici, 2021.

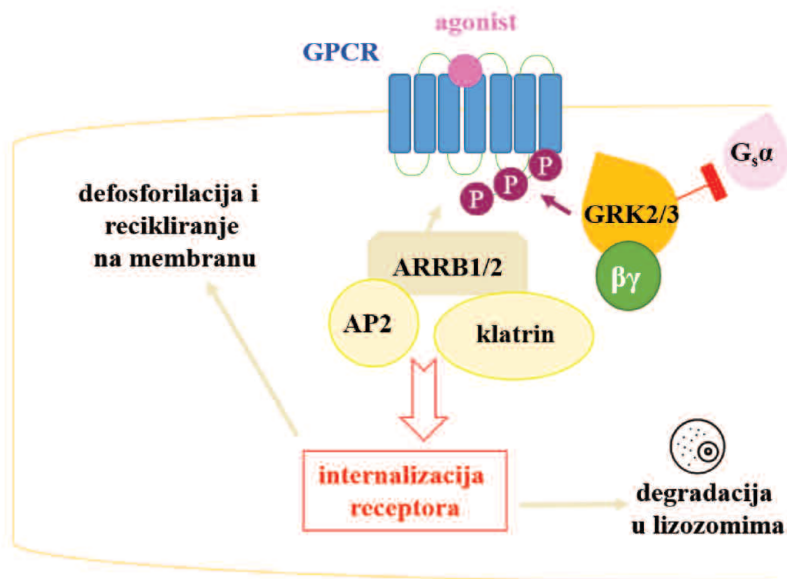


Slika 2. Signalni putevi β_1 -AR i β_2 -AR u zdravom srcu.

β -AR: beta-adrenergički receptor; Gs: stimulatorni G protein; Gi: inhibitorni G protein; AC: adenilat-ciklaza; ATP: adenzin trifosfat; cAMP: ciklični adenzin monofosfat; PKA: protein-kinaza A; CaMKII: Ca²⁺/kalmodulin-zavisna proteinska kinaza; PI3K: fosfatidilinozitol-3-kinaza; PKB: protein-kinaza B; P: fosforilacija; - : inhibicija. Preuzeto iz doktorske disertacije Kosić, 2022; modifikovano iz Ho i saradnici, 2010.

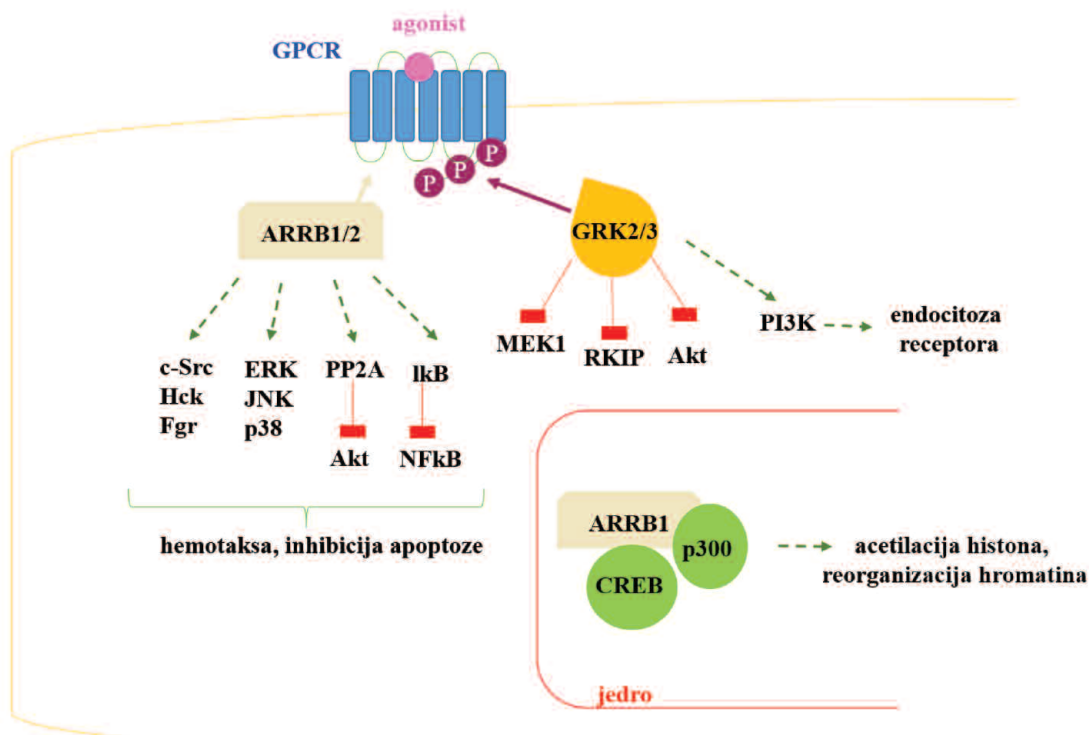


Slika 3. Struktura kinaza β -AR. GRK: kinaza G protein-spregnutog receptora; RGS: regulator funkcije G protein signalnog puta; PH: domen homolog plekstrinu; PL: fosfolipidi. CaM: Ca^{2+} kalmodulin; P: fosforilacija. Preuzeto iz doktorske disertacije Kosić, 2022; modificirano iz Senarath i saradnici, 2018.



Slika 4. Uloga GRK u desenzitizaciji i prometu GPCR.

GPCR: G protein-spregnuti receptor; GRK: kinaza G protein-spregnutog receptora; ARR1/2: beta arestin, G_s : stimulatorni G protein; AP2: adapter klatrina; - : inhibicija. Preuzeto iz doktorske disertacije Kosić, 2022; modificirano iz Reiter i Lefkowitz, 2006.



Slika 5. Uloga GRK i ARRB u signalnim putevima GPCR.

GPCR: G protein-spregnuti receptor; GRK: kinaza G protein-spregnutog receptora; ARRB: beta arestin; c-Src: protoonkogen; Hck: tirozin-kinaza; Fgr: onkogen; ERK: kinaza regulisana ekstracelularnim signalom; JNK: Jun-kinaza; p38: mitogenom aktivirana kinaza; PP2A: protein-fosfataza 2A; Akt: protein-kinaza B; IκB: inhibitor nuklearnog faktora kapa beta; NFκB: nuklearni faktor kapa beta; MEK1: mitogenom aktivirana protein-kinaza 1; RKIP: inhibitor Raf kinaze; PI3K: fosfatidilinozitol-3-kinaza; CREB, p300: transkripcijski faktori; P: fosforilacija; zelene isprekidane linije: aktivacija, crvene linije: inhibicija. *Preuzeto iz doktorske disertacije Kosić, 2022; modifikovano iz Reiter i Lefkowitz, 2006.*



“Trendovi u molekularnoj biologiji 3”
su podržani od
**Ministarstva nauke, tehnološkog
razvoja i inovacija Republike Srbije**

IMPRESUM

Trendovi u molekularnoj biologiji, 2023.

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 **Ivana Strahinić**, 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 **Duška 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

Štampa

Curent Print, Beograd

Periodičnost izlaženja publikacije

Godišnje

Tiraž

100 primeraka

t tmb

Trendovi u molekularnoj biologiji
Trends in Molecular Biology

Autori

Aleksandra Uskoković.....	138
Ana Djordjevic	151
Anastasija Ninković	38
Biljana Božić Nedeljković	245
Bojan Božić.....	245
Bojana Stevanović	90
Danijela Paunović.....	269
Dunja Drakulić	184
Dušanka Savić-Pavičević.....	38
Goran Brajušković.....	8
Ivana Kolić	168
Jadranka Miletić Vukajlović.....	184
Jelena Arambašić Jovanović	138
Jelena M. Aleksić.....	18
Jovan Pešović	38
Jovana Komazec.....	78
Jovana Kuveljić	122
Lana Radenković	38
Ljiljana Stojković	168
Ljupka Gligorovska	151
Luka Velimirov	38
Maja Bubić.....	106
Maja Stojiljković.....	78
Maja Živković	106
Marija Đorđević	138
Marija Đurić	256
Marija Dušanović Pjević	205
Marija Kosić.....	218
Marko Panić.....	38
Melita Vidaković.....	138
Milena Stevanović.....	18
Milka Grk.....	232
Miloš Brkušanin.....	38
Mirjana Mihailović	138
Nataša Kovačević Grujičić	18
Nemanja Garai.....	38
Nemanja Radovanović	38
Nevena Grdović.....	138
Nina Japundžić-Žigon	90
Nina Žigon.....	218
Slobodan Davidović.....	18
Svetlana Dinić	138
Tamara Djurić	122
Tanja Lunić	245
Teodora Karan-Đurašević	58
Zorica Nešić	218

CIP - Каталогизacija y publikaciji
Народна библиотека Србије, Београд

577.2

TRENDVI u molekularnoj biologiji = Trends in
Molecular Biology. - 2021, br. 1 (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