

Broj 3 • septembar 2023. N° 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**

Uticaj genetičkih faktora na efikasnost i toksičnost terapije metotreksatom kod pacijenata sa reumatoidnim artritismom

Milka Grk

Institut za humanu genetiku, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Kontakt: milkagrk@gmail.com

Apstrakt

Reumatoidni artritis (RA) je hronično, inflamatorno, autoimunska oboljenje koje se karakteriše bolom, otokom i destrukcijom sinovijalnih zglobova, što može da dovede do invaliditeta i prerane smrti obolelih. Terapija izbora na samom početku tretmana je monoterapija metotreksatom (MTX), koji je zbog svoje efikasnosti i dobrog bezbednosnog profila kao i zbog smanjivanja učestalosti komorbiditeta i mortaliteta obolelih osoba, i danas zlatni standard u terapiji RA. Međutim, studije su pokazale da odgovor na terapiju metotreksatom pokazuje 33-65% pacijenata, dok se tretman prekida kod 16% obolelih na monoterapiji zbog neželjenih efekata. Na ishod terapije, između ostalog, utiče i genetički profil pacijenata ali ova veza nije dovoljno objašnjena. Genske varijacije u vidu polimorfizama pojedinačnih nukleotida mogu da modifikuju odgovor osobe na različite faktore spoljašnje sredine, među njima i na odgovor na farmakološku terapiju. Ovaj rad će pokušati da obuhvati pregled uticaja pojedinačnih polimorfizama na efikasnost i toksičnost terapije metotreksatom kod obolelih od RA.

Ključne reči: polimorfizam, metotreksat, farmakogenetika, reumatoidni artritis

Genetic factors impacting the efficacy and toxicity of methotrexate therapy in rheumatoid arthritis patients

Milka Grk

Institute of Human Genetics, Faculty of Medicine, University of Belgrade

Correspondence: milkagrk@gmail.com

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, inflammatory, autoimmune disease characterized by impairment of synovial joints. Due to its efficacy, safety, and relatively low costs, MTX remains the cornerstone drug and a key part of the initial treatment strategy for RA patients. However, studies have shown that only 33-65% of patients respond to methotrexate therapy, and 16% of patients discontinue monotherapy due to side effects. The therapy outcome is influenced by the genetic profile of the patients, but this association is not yet fully understood. Gene variations in the form of single nucleotide polymorphisms can modify a person's response to various environmental factors, including their response to pharmacological therapy. This paper aims to provide an overview of the impact of individual polymorphisms on the efficacy and toxicity of methotrexate therapy in RA patients.

Keywords: polymorphism, methotrexate, pharmacogenetics, rheumatoid arthritis

Metotreksat u terapiji reumatoidnog artritisa

Reumatoidni artritis (RA) je hronično, sistemsko, autoimunsko, zapaljensko oboljenje čija je osnovna odlika progresivno oštećenje sinovijalnih zglobova, koje je praćeno pojavom mnogobrojnih vanzglobnih manifestacija (1,2). U Republici Srbiji prevalenca RA je među najnižima u Evropi i iznosi 0,34%. U našoj zemlji bolest je prisutna kod 0,16% muškaraca, dok je kod žena 3,18 puta češća (0,51%) (3).

Zlatni standard u terapiji RA je Metotreksat (MTX) (4,5). Istorija MTX-a počinje pedesetih godina dvadesetog veka (6). Pre razvoja MTX-a, RA je lečen simptomatski, terapijom bola. Tridesetih i četrdesetih godina dvadesetog veka uvedene su soli zlata i kortikosteroidna terapija (7,8). Prvi antimetabolit korišćen u terapiji RA bio je aminopterin. Gubner i saradnici su prvi pokazali njegovo povoljno dejstvo u terapiji artritisa kod osoba sa RA i psorijaznim artritisom, ali i u tretmanu kožnih promena kod psorijaze (6,9). Kako je aminopterin bio tehnički zahtevan za proizvodnju, pokrenuta su istraživanja sa ciljem da se aminopterin modifikuje radi lakše sinteze. Kao rezultat nastala je supstanca koja danas nosi naziv metotreksat (6). Prvu studiju koja je ispitala efikasnost MTX-a sprovedli su Black i saradnici kod pacijenata sa psorijaznim artritisom 1964. godine (10). Reumatolog Rex Hoffmeister je na kongresu 1972. godine prikazao svoja pozitivna iskustva sa primenom MTX-a u terapiji RA. Nažalost, rezultati ovog istraživanja nikad nisu u celosti objavljeni usled negativnih reakcija na sažetak koji je prikazao ove rezultate. U to vreme nije bilo zainteresovanosti da se u redovnu terapiju RA uvede lek iz klase citostatika (6). Prve dvostruko slepe studije sa randomizacijom, u kojima se efikasnost MTX-a poredi sa placebom, sprovedene su tek osamdesetih godina prošlog veka (11–14). Nakon dokazane efikasnosti i dobrog bezbednosnog profila, 1988. godine Američka administracija za hranu i lekove (FDA) odobrila je primenu MTX-a u terapiji RA (15,16). Prema najnovijim preporukama Evropske lige za borbu protiv reumatizma (EULAR) iz 2022. godine MTX ostaje lek prvog izbora za započinjanje terapije RA (17). Mnogi faktori su doprineli ovakvom statusu MTX-a nakon više od 50 godina primene. MTX ima relativno dobru efikasnost i prihvatljiv bezbednosni profil. Terapiju je moguće prilagoditi svakom pacijentu i prema dozi i prema putu primene. Ne sme se zaboraviti ni niska cena samog leka (5). Uticaj na preporuke EULAR-a imale su i studije koje su pokazale da većina bioloških lekova primenjena kao monoterapija nije superiorna u odnosu na monoterapiju metotreksatom u ranim fazama artritisa (18–21).

Glavni cilj savremene terapije RA (*treat-to-target*) je postizanje smanjenja aktivnosti bolesti u prva 3 meseca terapije i postizanje remisije, odnosno niskog nivoa aktivnosti bolesti nakon 6 meseci od započinjanja terapije (17). Prospektivne studije su pokazale da pravovremena primena efikasne terapije značajno utiče na progresiju bolesti. Kada se terapija uvede u prvih tri do šest meseci od početka bolesti, oboljenje se sporije razvija i pokazano je da će kvalitet života obolelih biti značajno bolji i nakon 10 godina trajanja bolesti nego kod osoba kod kojih nije postignuta adekvatna kontrola RA u ovom kratkom terapijskom prozoru (22,23). Strategije u terapiji su različite, te se MTX može primenjivati kao monoterapija, kombinovana ili *step-up* terapija (4,24). Kombinovana terapija se za sada pokazala kao najbolji izbor tretmana, kojim se najbrže uspostavlja remisija, odnosno niska aktivnost bolesti (25). Uprkos svojoj efikasnosti, neželjene reakcije se javljaju kod oko 30% obolelih, dok se terapija prekida zbog neefikasnosti kod čak 20% bolesnika na terapiji MTX-om (26). Kada se terapija započne lekom koji se nakon tri do šest meseci ispostavi kao neefikasan, lečenje se najčešće nastavlja kombinovanom terapijom sa više bolest-modifikujućih lekova ili se tretman u potpunosti menja (4,17). Međutim, tada se zatvara terapijski prozor u lečenju i propušta prilika da se uspostavi brza kontrola bolesti i postignu dugoročni, pozitivni efekti na tok bolesti (22). Upravo bi ovde razvoj farmakogenetike, a sa njom i personalizovane medicine, pokazali svoj značaj. Predviđanje ishoda lečenja MTX-om omogućilo bi da izaberemo optimalnu i efikasnu terapiju za svakog obolelog u ovom kratkom terapijskom

prozoru na početku bolesti. Kao rezultat imali bismo dugoročno očuvanje i poboljšanje kvaliteta života i funkcionalnosti (4,22,27).

Metabolički put metotreksata

Metotreksat je analog folne kiseline koji svoje dejstvo ostvaruje neposrednom ili posrednom inhibicijom enzima folatnog, metioninskog i adenozienskog puta, kao i uticajem na *de novo* sintezu purina i pirimidina (28,29).

Najčešći način primene MTX-a je oralni, mada danas postoje oblici koji se primenjuju potkožno i u mišić. Kako je MTX folatni analog, on prati put preuzimanja folne kiseline. Kada se primenjuje *per os* metotreksat iz creva preuzimaju enterociti (30,31). Bioraspoloživost MTX-a nakon oralne primene je visoka i kreće se u širokom rasponu između 64% i 90%, sugerišući na postojanje individualnih razlika u farmakokinetici kod pacijenata i potencijalno može uticati i na ishod terapije (32). Osnovni mehanizam preuzimanja MTX-a je preko proton-kuplovanih folatnih transporterata (PCFT; SLC46A1) koji su locirani u apikalnoj membrani enterocita. Iz enterocita, MTX ulazi u cirkulaciju (30,31). Maksimalna koncentracija metotreksata u krvi postiže se nakon jednog do dva sata od primene, dok je poluživot leka u plazmi oko 4,5-10 časova. Nakon 24 časa lek se u potpunosti odstranjuje iz cirkulacije (30,33,34). Najvećim delom, (65–80%) lek se izlučuje, neizmenjen, preko bubrega. Oko 3% MTX-a izlučenog urinom nalazi se u obliku 7-hidroksi MTX-a, sintetisanog u jetri (32,35).

Prateći put folne kiseline, MTX ulazi u ćelije preko redukovanih folatnih nosača (SLC19A1; RFC1) (36). Istraživanja su pokazala da, bar delimično, ćelije preuzimaju MTX i putem folatnih receptora. Folatni receptor β , koji je lokalizovan na sinoviocitima, ima visok afinitet za MTX. Međutim, ovo verovatno nije primarni put kojim MTX ulazi u sinoviocite zbog kompeticije sa 5-metil tetrahidrofolatom koji ima visok afinitet za isti receptor, a koji se u plazmi nalazi u velikoj koncentraciji (32).

Nakon ulaska u ćeliju MTX je izložen dejstvu enzima folipoliglutamata sintaze (FPGS) koji vrši njegovu poliglutamaciju. Poliglutamacijom se MTX zarobljava u citoplazmi. MTX-poliglutamata, za razliku od slobodne forme leka, ne podleže izlučivanju iz ćelije preko ABC transporterata (ATP-vezujući kasetni transporteri). Na taj način poliglutamacija omogućava održavanje visoke koncentracije MTX-a u ćelijama čak i nakon njegovog potpunog odstranjivanja iz cirkulacije (34,36). Kako bi napustio ćeliju, MTX-poliglutamata mora podleći procesu deglutamacije koju katališe enzim γ -glutamil hidrolaza (GGH). MTX-poliglutamata se prvo prevodi u kraće poliglutamatane oblike i na kraju u MTX. Sam MTX podleže vezivanju za ABC transporterata i izlučuje se iz ćelija (34,36,37). Stabilna koncentracija MTX-poliglutamata u ćelijama rezultat je balansa aktivnosti FPGS i GGH i uspostavlja se nakon nekoliko nedelja od početka tretmana, što odgovara i prvim vidljivim efektima metotreksata na smanjivanje aktivnosti RA kod obolelih (38,39).

MTX-poliglutamata svoje dejstvo prevashodno ostvaruje uticajem na odvijanje folatnog ciklusa. Njegov primarni cilj je inhibicija enzima dihidrofolat reduktaze (DHFR). Inhibicija DHFR vodi ka smanjenom prevođenju dihidrofolata u tetrahidrofolat. Kao rezultat smanjuje se sinteza 5-metil tetrahidrofolata. Interesantno je da MTX ne utiče na funkciju metilen tetrahidrofolat reduktaze (MTHFR), ali smanjena funkcija MTHFR vodi do usporenog prevođenja 5,10-metilen tetrahidrofolata u 5-metil tetrahidrofolat, što dodatno smanjuje njegovu dostupnost u ćeliji. 5-metil tetrahidrofolat je neophodan za reakciju transmetilacije kojom se homocistein prevodi u metionin, pri čemu metil grupa potiče sa 5-metil tetrahidrofolata. U ovoj reakciji demetilacijom 5-metil tetrahidrofolat se vraća u formu tetrahidrofolata. MTX-poliglutamata takođe inhibira i enzim timidilat sintazu (TYMS) koji je uključen u metabolički put sinteze pirimidina. Smanjena aktivnost ovog enzima uz relativni nedostatak THF vodi ka usporenoj biosintezi pirimidina (40).

Poznato je da je MTX primarno dizajniran kao kompetitivni inhibitor folne kiseline, i da se sa većim afinitetom vezuje za DHFR nego dihidrofolat (36,41). Istovremeno aktivna folatna jedinjenja su neophodna i za *de novo* sintezu purina, koja je dodatno usporena i zbog vezivanja MTX-poliglutamata za enzim 5-aminoimidazol 4-karboksamid ribonukleotid (AICAR) formiltransferazu, koja je deo ovog puta (34,42). AICAR formiltransferazu kodira gen *ATIC* (43). Kao posledica inhibicije AICAR formiltransferaze dolazi do nakupljanja AICAR-a u ćelijama. Sam AICAR je kompetitivni inhibitor enzima adenzin monofosfat deaminaze 1 (AMPD1) i adenzin deaminaze (ADA). AMPD1 i ADA su deo adenzinskog puta. Inhibicijom AMPD1 dolazi do blokade puta kojim se AMP prevodi u IMP, i dalje usmerava metabolizam IMP-a ka prevođenju u inozin i na kraju u hipoksantin. AMP ima mogućnost da u slučaju blokade metaboličkog puta preko AMPD1 enzima podlegne transformaciji u adenzin, a zatim dejstvom enzima ADA dalje u inozin. Međutim, u prisustvu MTX i ovaj put je usporen, te se kao posledica adenzin ne metaboliše u inozin, već se nakuplja u ćelijama. U ovakvim uslovima ćelija oslobađa veću količinu adenzina. Ovaj purinski nukleozid, dalje, ostvaruje svoje dejstvo vezivanjem za adenzinske receptore (34,44). Smatra se da bar deo svog dejstva MTX ostvaruje, posredno, preko antiinflamatornog adenzinskog puta (34,44,45).

Uticaj genskih varijanti na ishod terapije metotreksatom

Brojne farmakogenetičke studije su se bavile ispitivanjem uticaja polimorfizama pojedinačnih nukleotida (SNP) u genima koji kodiraju enzime folatnog, adenzinskog puta, kao i enzime koji kontrolišu *de novo* sintezu purina i pirimidina na efikasnost i toksičnost MTX-a kod obolelih od RA (46,47).

Polimorfizam rs1051266 (G80A) *SLC19A1* gena dovodi do *missense* mutacije (His>Arg) (48). Pokazano je da kod nosilaca AA genotipa postoji brži influks MTX-a u ćelije nego kod nosilaca G alela ovog polimorfizma (49). Najveći broj studija se slaže da prisustvo G alela povećava rizik od nastanka neželjenih efekata kod nosilaca (50–53). Ovakav uticaj G alela potvrđuju i meta-analize koje su uključile veliki broj do sada sprovedenih studija (52,54). Istovremeno Takori i saradnici nisu pronašli ovakvu povezanost u studiji na japanskim bolesnicima (55). Iako su podaci o uticaju ovog polimorfizma na efikasnost oprečni, pojedine studije su pronašle vezu rs1051266 sa efikasnošću MTX-a ili je ona bila prisutna samo kod pacijenata koji su koristili suplemente folata (50,54,56). Owen i saradnici su prijavili povezanost šest polimorfizama ovoga gena sa efikasnošću MTX terapije (rs11702425, rs2838956, rs7499, rs2274808, rs9977268 i rs7279445), dok se sam rs1051266 nije pokazao kao značajan (48).

Ispitivanje polimorfizama *FPGS* gena pokazala su oprečne rezultate. Moya i saradnici su pokazali da pacijenti koji su nosioci rs10987742 AA genotipa imaju bolji odgovor na terapiju MTX-om. Zanimljivo je i da prema ovom istraživanju nosioci TT genotipa za rs10106 imaju bolji odgovor na terapiju ali i učestalije neželjene efekte od nosilaca C alela (57). Polimorfizmi ovog gena (rs10987742, rs10760502, rs10106) u drugim istraživanjima nisu bili povezani sa ishodom terapije kod obolelih od RA (39,57,58). Sa druge strane na nivo MTX-poliglutamata utiče raspoloživost i aktivnost GGH. Promotorski polimorfizam rs1800909 (C>T) povećava ekspresiju *GGH* gena, dok je rs11545078 (C>T) *missense* varijanta koja dovodi do smanjene aktivnosti enzima i posledično do povećanja koncentracije MTX-poliglutamata u ćeliji (39). Straaten i saradnici su primetili da je među osobama sa dobrim odgovorom veća učestalost C alela rs1800909 polimorfizma. Jekić i saradnici su u svojoj studiji uočili da su svi RA pacijenti sa mijelosupresijom nosioci GG genotipa za rs11545078 polimorfizam (39,59). Druge studije nisu pokazale povezanost polimorfizama ovog gena sa ishodom terapije MTX-om (39,48,60,61).

Najviše istraživača se ipak bavilo uticajem polimorfizama u genima koji kodiraju enzime folatnog ciklusa na ishod terapije MTX-om (29). Najveću pažnju istraživača su privukle varijante u genima koji kodi-

raju enzime DHFR i MTHFR (29,62). DHFR je ciljani enzim za vezivanje MTX-poliglutamata. Najčešće ispitivane varijante ovoga gena su rs70991108, rs6151599, rs1650697, rs3045983, rs12517451, rs10072026 i rs1643657(48,63–65). U našoj populaciji ispitivan je uticaj promotorskih polimorfizama koji potencijalno mogu promeniti ekspresiju gena. Genotip AA rs70991108 polimorfizma u populaciji RA bolesnika iz Srbije povezan je sa lošim odgovorom na terapiju MTX-om (64). Takođe, alel T rs1650697 (C35T) polimorfizma je povezan sa protekcijom od razvoja hepatotoksičnosti (65). Polimorfizam rs3045983 (63/91) je kompleksna inserciono/deleciona varijacija. Alel koji nosi deleciju (GGGAGCTGG) na poziciji 63 i inserciju jedne kopije motiva dugog 9 bp (GCCGCTGCG) na poziciji 91 gena ima protektivan efekat i nosioci ovog alela ređe ispoljavaju neželjene efekte pri lečenju RA MTX-om (41,63). Iako se MTX ne vezuje direktno za enzim MTHFR, stepen aktivnosti ovog enzima utiče na brzinu samog folatnog ciklusa, a time potencijalno utiče na efikasnost i toksičnost MTX-a. Dva najznačajnija i najčešće proučavana polimorfizma u *MTHFR* genu su rs1801133 (C677T) i rs1801131 (A1298C) (29). rs1801133 (C677T) dovodi do zamene citozina timinom na poziciji 677, što dalje vodi ka zameni alanina valinom na poziciji 222 proteinskog produkta (28). Aktivnost enzima MTHFR kod heterozigota smanjena je za oko 35%, dok je kod osoba sa TT genotipom smanjena za oko 70% (66). Osobe koje su nosioci TT genotipa stoga imaju manje dostupnog 5-metil tetrahidrofolat koji je neophodan za prevođenje homocisteina u metionin. Blago povećani nivoi homocisteina u krvi ovih osoba mogu se uspešno regulisati adekvatnim unosom folata (66,67). Mišljenja autora o značaju ovog polimorfizma su podeljena. Većina autora koji su povezali ovu varijantu sa ishodom terapije se slaže da prisustvo T alela povećava verovatnoću za pojavu neželjenih efekata i smanjuje efikasnost leka (62). Polimorfizam rs1801131 *MTHFR* gena je *missense* varijanta koja uzrokuje zamenu glutamata sa alaninom u enzimu na poziciji 429 (28). Iako je aktivnost enzima narušena ovom genskom varijantom, uticaj ovog polimorfizma na aktivnost enzima je značajno manji (68,69).

U putu *de novo* sinteze purina MTX-poliglutamat inhibira AICAR transformilazu, kodiranu genom *ATIC* (29). U našoj populaciji nije pronađena povezanost *ATIC* -129T>G (rs4535042) polimorfizma i ishoda terapije (70). Najčešće ispitivan polimorfizam *ATIC* gena je rs2372536 (46,47). Među brojnim studijama koje su ispitivale povezanost ovog polimorfizma sa ishodom terapije izdvajaju se Lima i saradnici. Lima i saradnici su povezali C alel sa rizikom od neuspeha terapije, što je u potpunoj suprotnosti sa studijom Wessels i saradnika koji su CC genotip povezali sa dobrim uspehom terapije (29,60). Salazar i saradnici su povezali rs16853826 polimorfizam *ATIC* gena sa toksičnošću MTX-a i značaj ovog intronskog polimorfizma objasnili su mogućom pozicijom u splajsing regionu (71). Owen i saradnici povezali su rs12995526, rs3821353, rs7563206 i rs16853834 varijante ovog gena sa efikasnošću MTX-a (48). Iako su enzimi adenzinskog ciklusa, ADA i AMPD1 su samo posredno pogođeni prisustvom MTX-poliglutamata. Prisustvo G alela rs244076 polimorfizma *ADA* gena vodio je ka lošem odgovoru, dok rs1799880 nije imao uticaj na ishod lečenja MTX-om u indijskoj populaciji (72). Iako *missense* varijanta *AMPD1* rs17602729 (C34T) dovodi do smanjene aktivnosti enzima kod nosilaca, njen uticaj na efikasnost MTX-a još uvek nije razjašnjen. Dok pojedini autori povezuju T alel sa dobrim kliničkim odgovorom, u slovenačkoj populaciji nosioci ovog alela imaju veće vrednosti DAS28 nakon šest meseci terapije (29,48,72–74). *Missense* varijanta *ITPA* rs1127354 (Pro32Thr) dovodi do smanjenja aktivnosti *ITPA*. Heterozigoti za rs1127354 (CA) imaju smanjenje enzimске aktivnosti za 75%, dok osobe sa AA genotipom imaju očuvano svega 1% od normalne aktivnosti enzima (75). Ovaj polimorfizam je povezan sa neželjenim efektima azatioprina ali nije pokazao značajan uticaj na ishod terapije MTX-om kod obolelih od RA. Po jedna studija je opisala dobar odgovor na MTX kod nosilaca CC genotipa, odnosno češću pojavu neželjenih efekata kod nosilaca A alela (48,73,76,77). Kako adenzin svoje antiinflamatorno dejstvo ostvaruje vezivanjem za adenzinske receptore, ispitivan je i potencijalni uticaj polimorfizama u genima koji ih kodiraju na ishod terapije MTX-om (78–81). Uticaj genskih varijanti *ADORA2A* gena

bio je češće predmet istraživanja u farmakogenetici MTX-a nego polimorfizmi *ADORA3* gena. Iako je pokazano da osobe nosioci T alela rs2298383 polimorfizma *ADORA2A* gena imaju manju ekspresiju receptora na površini ćelija od osoba sa CC genotipom, najveći broj studija nije povezao uticaj ovog polimorfizma sa efikasnošću MTX-a u terapiji RA (29,72,82,83). Polimorfizam rs5751876 predstavlja tihu mutaciju i uticaj ove varijante bi mogao biti objašnjen uticajem na brzinu prepisivanja iRNK. U indijskoj populaciji T alel je povezan sa većim rizikom za loš odgovor na terapiju, dok ostali istraživači ovu povezanost nisu potvrdili u svojim studijama (45,72,81,82). U okviru *ADORA3* gena ispitivani su rs2298191, rs1544223, rs78594984, rs35511654, rs2229155, rs3393 i rs3394 polimorfizmi. Iako pojedinačni polimorfizmi nisu povezani sa efikasnošću i toksičnošću MTX, haplotipovi TATCAC i TGTCGC (rs2298191, rs1544223, rs78594984, rs35511654, rs2229155, rs3393 i rs3394) i TAA (rs2298191, rs1544223, rs3393) su pokazali povezanost sa češćom pojavom neželjenih reakcija, odnosno sa pojavom erozija (45,82).

U pokušaju da se predvidi odgovor na terapiju MTX-om u terapiji RA razvijeni su brojni prediktivni modeli. Pojedini modeli su bili bazirani isključivo na kliničkim i demografskim podacima, dok su drugi bili bazirani na varijacijama u genomu. Oni koji su se bazirali na genskim varijacijama najčešće su u obzir uzimali enzime koji pripadaju istom metaboličkom putu, najčešće folatnom ciklusu. Međutim ni jedan od prediktivnih modela nije se pokazao kao pouzdan i prihvaćen u kliničkoj praksi (27,74,77,84,85). Postojali su pokušaji da se objedine klinički podaci i najznačajniji polimorfizmi iz različitih metaboličkih puteva. Problemi su nastajali kada bi se ovakvi modeli, razvijeni na jednoj populaciji bolesnika, primenili na obolelima iz drugih populacija. Tako, prediktivni model koji je razvijen na slovenačkoj kohorti nije imao dobru prediktivnu vrednost u populaciji obolelih iz Srbije (74,85). Sprovođenje kvalitetnih meta-analiza takođe predstavlja izazov. Najznačajniji razlog je heterogenost podataka. Najbolji primer za to je određivanje efikasnosti MTX-a. Iako se većina studija bazirala na EULAR-ovim preporukama i promeni DAS28 skora tokom perioda praćenja obolelih, mnogi istraživači su koristili promenu DAS44 skora, sedimentacije eritrocita, broj bolnih ili otečenih zglobova (26,48,60,81).

Premda su istraživanja u oblasti farmakogenetike brojna, još uvek je dug put pred nama. Nastavak istraživanja, saradnje i ulaganja u oblasti farmakogenetike su neophodni da bi se dosegao njen pun potencijal i kako bi se unapredilo lečenje ne samo RA, već i drugih multifaktorskih bolesti (18,86-91). Tek tada možemo zaista utrti put ka efikasnom, personalizovanom pristupu zdravstvenoj zaštiti koji je usredsređen na pacijenta.

Zahvalnica

Ovaj rad je podržalo Ministarstvo prosvete nauke i tehnološkog razvoja Srbije (175091) i Istraživačka agencija Slovenije (P1-0170)

Literatura

1. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: An American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2010;62(9):2569–81.
2. Gibofsky A. Overview of epidemiology, pathophysiology, and diagnosis of rheumatoid arthritis. *The American journal of managed care.* 2012;18:S295-302.
3. Zlatković-Švenda MI, Stojanović RM, Šipetić-Grujičić SB, Guillemin F. Prevalence of rheumatoid arthritis in Serbia. *Rheumatol Int.* 2014;34(5):649–58.

4. Smolen JS, Landewé R, Bijlsma JWJ, Burmester G, Chatzidionysiou K, Dougados M et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2016 update. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(6):960–77.
5. Combe B, Landewe R, Daien CI, Hua C, Aletaha D, Álvaro-Gracia JM et al. 2016 update of the EULAR recommendations for the management of early arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2017;76(6):948–59.
6. Weinblatt ME. Methotrexate in rheumatoid arthritis: a quarter century of development. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2013;124:16–25.
7. Forestier J. Treatment of Rheumatoid Arthritis With Gold Salts. *Lancet.* 1934;224:441-4.
8. Hench PS, Kendall EC, Slocumb CH, Polley HF. The effect of a hormone of the adrenal cortex (17-hydroxy-11-dehydrocorticosterone: compound E) and of pituitary adrenocortical hormone in arthritis: preliminary report. *Annals of the rheumatic diseases.* 1949;8(2):97-104.
9. Gubner R, August S, Ginsberg V. Therapeutic suppression of tissue reactivity. 2. Effect of aminopterin in rheumatoid arthritis and psoriasis. *American Journal of Medical Sciences.* 1951;221:176-82.
10. Black RL, O'Brien WM, Van Scott EJ, Auerbach R, Eisen AZ, Bunim JJ. Methotrexate therapy in psoriatic arthritis: double-blind study on 21 patients. *Jama.* 1964 Sep 7;189(10):743-7.
11. Williams HJ, Willkens RF, Samuelson CO, Alarcón GS, Guttadauria M, Yarboro C et al. Comparison of low-dose oral pulse methotrexate and placebo in the treatment of rheumatoid arthritis. A Controlled Clinical Trial. *Arthritis Rheum.* 1985;28(7):721–30.
12. Weinblatt ME, Coblyn JS, Fox DA, Fraser PA, Holdsworth DE, Glass DN et al. Efficacy of low-dose methotrexate in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 1985;312(13):818–22.
13. Andersen PA, West SG, O'Dell JR, Via CS, Claypool RG, Kotzin BL. Weekly pulse methotrexate in rheumatoid arthritis: clinical and immunologic effects in a randomized, double-blind study. *Annals of internal medicine.* 1985;103(4):489-96.
14. Thompson RN, Watts C, Edelman J, Esdaile J, Russell AS. A controlled two-centre trial of parenteral methotrexate therapy for refractory rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology.* 1984;11(6):760-3.
15. Upchurch KS, Kay J. Evolution of treatment for rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2012;51:vi28-36.
16. Weinblatt ME. Methotrexate: Who would have predicted its importance in rheumatoid arthritis? *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):4–5.
17. Smolen JS, Landewé RBM, Bergstra SA, Kerschbaumer A, Sepriano A, Aletaha D et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2022 update. *Ann Rheum Dis.* 2022;82(1):3–18.
18. Szekanecz Z, Meskó B, Poliska S, Vánca A, Szamosi S, Végh E et al. Pharmacogenetics and pharmacogenomics in rheumatology. *Immunologic research.* 2013;56:325-33.
19. Donahue KE, Schulman ER, Gartlehner G, Jonas BL, Coker-Schwimmer E, Patel SV et al. Comparative effectiveness of combining MTX with biologic drug therapy versus either MTX or biologics alone for early rheumatoid arthritis in adults: a systematic review and network meta-analysis. *Journal of General Internal Medicine.* 2019;34:2232-45.
20. Breedveld FC, Weisman MH, Kavanaugh AF, Cohen SB, Pavelka K, Vollenhoven RV et al. The PREMIER study: a multicenter, randomized, double-blind clinical trial of combination therapy with adalimumab plus methotrexate versus methotrexate alone or adalimumab alone in patients with early, aggressive rheumatoid arthritis who had not had previous methotrexate treatment. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology.* 2006;54(1):26-37.
21. Emery P, Burmester GR, Bykerk VP, Combe BG, Furst DE, Barré E et al. Evaluating drug-free remission with abatacept in early rheumatoid arthritis: results from the phase 3b, multicentre, randomised, active-controlled AVERT study of 24 months, with a 12-month, double-blind treatment period. *Annals of the rheumatic diseases.* 2015;74(1):19-26.
22. Tm F, Lunt M, Fu B, Bunn D, Symmons D. Early treatment with and time on first disease modifying anti-rheumatic drug predicts long-term function in patients with inflammatory polyarthritis. *Ann Rheum Dis.* 2009;69:689-95.
23. Aletaha D, Alasti F, Smolen JS. Optimisation of a treat-to-target approach in rheumatoid arthritis: strategies for the 3-month time point. *Annals of the rheumatic diseases.* 2016;75(8):1479-85.
24. Goekoop-Ruiterman YD, de Vries-Bouwstra JK, Allaart CF, Van Zeben D, Kerstens PJ, Hazes JM et al. Clinical and radiographic outcomes of four different treatment strategies in patients with early rheumatoid arthritis (the BeSt study): a randomized, controlled trial. *Arthritis & Rheumatism.* 2005;52(11):3381-90.
25. Steunebrink LM, Versteeg GA, Vonkeman HE, Ten Klooster PM, Kuper HH, Zijlstra TR et al. Initial combination therapy versus step-up therapy in treatment to the target of remission in daily clinical practice in early rheumatoid arthritis patients: results from the DREAM registry. *Arthritis research & therapy.* 2016;18:1-9.

26. Ling SF, Bluett J. Pharmacogenetics of methotrexate response in rheumatoid arthritis: An update. *Pharmacogenomics*. 2020;21(1):3-6.
27. Klak A, Paradowska-Gorycka A, Kwiatkowska B, Raciborski F. Personalized medicine in rheumatology. *Reumatologia/Rheumatology*. 2016;54(4):177-86.
28. Dervieux T, Greenstein N, Kremer J. Pharmacogenomic and metabolic biomarkers in the folate pathway and their association with methotrexate effects during dosage escalation in rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*. 2006;54(10):3095-103.
29. Lima A, Bernardes M, Azevedo R, Seabra V, Medeiros R. Moving toward personalized medicine in rheumatoid arthritis: SNPs in methotrexate intracellular pathways are associated with methotrexate therapeutic outcome. *Pharmacogenomics*. 2016;17(15):1649-74.
30. Friedman B, Cronstein B. Methotrexate mechanism in treatment of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2019;86(3):301-7.
31. Desmoulin SK, Hou Z, Gangjee A, Matherly LH. The human proton-coupled folate transporter: Biology and therapeutic applications to cancer. *Cancer biology & therapy*. 2012;13(14):1355-73.
32. Inoue K, Yuasa H. Molecular basis for pharmacokinetics and pharmacodynamics of methotrexate in rheumatoid arthritis therapy. *Drug metabolism and pharmacokinetics*. 2014;29(1):12-9.
33. Godfrey C, Sweeney K, Miller K, Hamilton R, Kremer J. The population pharmacokinetics of long-term methotrexate in rheumatoid arthritis. *British journal of clinical pharmacology*. 1998;46(4):369-76.
34. Brown PM, Pratt AG, Isaacs JD. Mechanism of action of methotrexate in rheumatoid arthritis, and the search for biomarkers. *Nature Reviews Rheumatology*. 2016;12(12):731-42.
35. Chan ES, Fernandez P, Cronstein BN. Methotrexate in rheumatoid arthritis. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2007;3(1):27-33.
36. Yamamoto T, Shikano K, Nanki T, Kawai S. Folylpolylglutamate synthase is a major determinant of intracellular methotrexate polyglutamates in patients with rheumatoid arthritis. *Scientific reports*. 2016;6(1):35615.
37. Restrepo LF, Giraldo R, Londoño J, Pinzón C, Cortes A, Ballesteros G et al. Pharmacogenetics of methotrexate in rheumatoid arthritis: a systematic review. *Revista Colombiana de Reumatología (English Edition)*. 2016;23(2):102-14.
38. Dalrymple JM, Stamp LK, O'Donnell JL, Chapman PT, Zhang M, Barclay ML. Pharmacokinetics of oral methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis & Rheumatism: Official Journal of the American College of Rheumatology*. 2008;58(11):3299-308.
39. Van der Straaten RJ, Wessels JA, de Vries-Bouwstra JK, Goekoop-Ruiterman YP, Allaart CF, Bogaartz J et al. Exploratory analysis of four polymorphisms in human GGH and FPGS genes and their effect in methotrexate-treated rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics*. 2007;8(2):141-50.
40. Schmelting H, Horneff G, Benseler SM, Fritzler MJ. Pharmacogenetics: can genes determine treatment efficacy and safety in JIA?. *Nature Reviews Rheumatology*. 2014;10(11):682-90.
41. Askari BhS, Krajcinovic M. Dihydrofolate reductase gene variations in susceptibility to disease and treatment outcomes. *Current genomics*. 2010;11(8):578-83.
42. Baggott JE, Morgan SL, Sams WM, Linden J. Urinary adenosine and aminoimidazolecarboxamide excretion in methotrexate-treated patients with psoriasis. *Archives of dermatology*. 1999;135(7):813-7.
43. Dai H, Charnigo RJ, Becker ML, Leeder JS, Motsinger-Reif AA. Risk score modeling of multiple gene to gene interactions using aggregated-multifactor dimensionality reduction. *BioData mining*. 2013;6(1):1-6.
44. Riksen NP, Barrera P, Van Den Broek PHH, Van Riel PLCM, Smits P, Rongen GA. Methotrexate modulates the kinetics of adenosine in humans in vivo. *Annals of the rheumatic diseases*. 2006;65(4):465-70.
45. Grk M, Milic V, Dolzan V, Maksimovic N, Damnjanovic T, Pjevic MD et al. Analysis of association of ADORA 2 A and ADORA 3 polymorphisms genotypes/haplotypes with efficacy and toxicity of methotrexate in patients with Rheumatoid arthritis. *The Pharmacogenomics Journal*. 2020;20(6):784-91..
46. Eektimmerman F, Swen JJ, Madhar MB, Allaart CF, Guchelaar HJ. Predictive genetic biomarkers for the efficacy of methotrexate in rheumatoid arthritis: a systematic review. *The pharmacogenomics journal*. 2020;20(2):159-68.
47. Qiu Q, Huang J, Shu X, Fan H, Zhou Y, Xiao C. Polymorphisms and pharmacogenomics for the clinical efficacy of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis: a systematic review and meta-analysis. *Scientific Reports*. 2017;7(1):44015.
48. Owen SA, Hider SL, Martin P, Bruce IN, Barton A, Thomson W. Genetic polymorphisms in key methotrexate pathway genes are associated with response to treatment in rheumatoid arthritis patients. *The pharmacogenomics journal*. 2013;13(3):227-34.
49. Lima A, Bernardes M, Azevedo R, Monteiro J, Sousa H, Medeiros R et al. SLC19A1, SLC46A1 and SLC01B1 polymorphisms as predictors of methotrexate-related toxicity in Portuguese rheumatoid arthritis patients. *Toxicological Sciences*. 2014;142(1):196-209..

50. Bohanec Grabar P, Logar D, Lestan B, Dolžan V. Genetic determinants of methotrexate toxicity in rheumatoid arthritis patients: a study of polymorphisms affecting methotrexate transport and folate metabolism. *European journal of clinical pharmacology*. 2008;64:1057-68.
51. Samara SA, Irshaid YM, Mustafa KN. Association of MDR1 C3435T and RFC1 G80A polymorphisms with methotrexate toxicity and response in Jordanian rheumatoid arthritis patients. *International journal of clinical pharmacology and therapeutics*. 2014;52(9):746-55.
52. Huang J, Fan H, Qiu Q, Liu K, Lv S, Li J et al. Are gene polymorphisms related to adverse events of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis? A retrospective cohort study based on an updated meta-analysis. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*. 2020;11:2040622320916026.
53. Świerkot J, Ślęzak R, Karpiński P, Pawłowska J, Noga L, Szechiński J et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms of RFC-1, GGH, MTHFR, TYMS, and TCI1 genes and the efficacy and toxicity of methotrexate treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Pol Arch Med Wewn*. 2015;125(3):152-61.
54. Naushad SM, Alrokayan SA, Almajhdi FN, Hussain T. Influence of RFC1 c. 80A> G polymorphism on methotrexate-mediated toxicity and therapeutic efficacy in rheumatoid arthritis: a meta-analysis. *Annals of Pharmacotherapy*. 2021;55(12):1429-38.
55. Takatori R, Takahashi KA, Tokunaga D, Hojo T, Fujioka M, Asano T et al. ABCB1 C3435T polymorphism influences methotrexate sensitivity in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol*. 2006;24(5):546-54.
56. Kung TN, Dennis J, Ma Y, Xie G, Bykerk V, Pope J T et al. RFC1 80G> A is a genetic determinant of methotrexate efficacy in rheumatoid arthritis: a human genome epidemiologic review and meta-analysis of observational studies. *Arthritis & Rheumatology*. 2014;66(5):1111-20.
57. Moya P, Salazar J, Arranz MJ, Díaz-Torné C, Del Río E, Casademont J et al. Methotrexate pharmacokinetic genetic variants are associated with outcome in rheumatoid arthritis patients. *Pharmacogenomics*. 2016;17(11):25-9.
58. Muralidharan N, Sundaram R, Kodidela S, Chengappa KG, Mariaselvam CM, Misra DP et al. Folyl polyglutamate synthetase (FPGS) gene polymorphisms may influence methotrexate adverse events in South Indian Tamil Rheumatoid Arthritis patients. *The Pharmacogenomics Journal*. 2020;20(2):342-9.
59. Jekic B, Lukovic L, Bunjevacki V, Milic V, Novakovic I, Damjanovic T et al. Association of the TYMS 3G/3G genotype with poor response and GGH 354GG genotype with the bone marrow toxicity of the methotrexate in RA patients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013;69(3):377-83.
60. Wessels JA, de Vries Bouwstra JK, Heijmans BT, Slagboom PE, Goekoop Ruiterman YP, Allaart CF et al. Efficacy and toxicity of methotrexate in early rheumatoid arthritis are associated with single nucleotide polymorphisms in genes coding for folate pathway enzymes. *Arthritis & Rheumatism*. 2006;54(4):1087-95.
61. Senapati S, Singh S, Das M, Kumar A, Gupta R, Kumar U et al. Genome-wide analysis of methotrexate pharmacogenomics in rheumatoid arthritis shows multiple novel risk variants and leads for TYMS regulation. *Pharmacogenet Genomics*. 2014;24(4):211-9.
62. Malik F, Ranganathan P. Methotrexate pharmacogenetics in rheumatoid arthritis: A status report. *Pharmacogenomics*. 2013;14(3):305-14.
63. Jekic B, Vejnovic D, Milic V, Maksimovic N, Damjanovic T, Bunjevacki V et al. Association of 63/91 length polymorphism in the DHFR gene major promoter with toxicity of methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Pharmacogenomics*. 2016;17(15):1687-91.
64. Milic V, Jekic B, Lukovic L, Bunjevacki V, Milasin J, Novakovic I et al. Association of dihydrofolate reductase (DHFR)-317AA genotype with poor response to methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology-Incl Supplements*. 2012;30(2):178.
65. Vejnović D, Milić V, Popović B, Damjanović T, Maksimović N, Bunjevački V et al. Association of C35T polymorphism in dihydrofolate reductase gene with toxicity of methotrexate in rheumatoid arthritis patients. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*. 2019;15(3):253-7.
66. Rozen R. Genetic predisposition to hyperhomocysteinemia: deficiency of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Thrombosis and haemostasis*. 1997;78(07):523-6.
67. Blom HJ, Smulders Y. Overview of homocysteine and folate metabolism. With special references to cardiovascular disease and neural tube defects. *Journal of inherited metabolic disease*. 2011;34:75-81.
68. Van der Put NM, Gabreëls F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects?. *The American Journal of Human Genetics*. 1998;62(5):1044-51.

69. Weisberg I, Tran P, Christensen B, Sibani S, Rozen R. A second genetic polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab.* 1998;64(3):169–72.
70. Milic V, Jekic B, Lukovic L, Bunjevacki V, Milasin J, Novakovic I et al. Association of dihydrofolate reductase (DHFR) -317AA genotype with poor response to methotrexate in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 2012;30(2):178.
71. Salazar J, Moya P, Altes A, Diaz-Torne C, Casademont J, Cerda-Gabaro D et al. Polymorphisms in genes involved in the mechanism of action of methotrexate: are they associated with outcome in rheumatoid arthritis patients?. *Pharmacogenomics.* 2014;15(8):1079-90.
72. Sharma S, Das M, Kumar A, Marwaha V, Shankar S, Singh P et al. Purine biosynthetic pathway genes and methotrexate response in rheumatoid arthritis patients among north Indians. *Pharmacogenet Genomics.* 2009;19(10):823–8.
73. Wessels JAM, Kooloos WM, De Jonge R, De Vries-Bouwstra JK, Allaart CF, Linssen A et al. Relationship between genetic variants in the adenosine pathway and outcome of methotrexate treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006;54(9):2830–9.
74. Jenko B, Lusa L, Tomsic M, Praprotnik S, Dolzan V. Clinical–pharmacogenetic predictive models for MTX discontinuation due to adverse events in rheumatoid arthritis. *The Pharmacogenomics Journal.* 2017;17(5):412-8.
75. Burgis NE. A disease spectrum for ITPA variation: advances in biochemical and clinical research. *Journal of Biomedical Science.* 2016;23:1-3.
76. Dervieux T, Wessels JA, van der Straaten T, Penrod N, Moore JH, Guchelaar HJ et al. Gene–gene interactions in folate and adenosine biosynthesis pathways affect methotrexate efficacy and tolerability in rheumatoid arthritis. *Pharmacogenetics and genomics.* 2009;19(12):935-44.
77. Fransen J, Kooloos WM, Wessels JA, Huizinga TW, Guchelaar HJ, Van Riel PL et al. Clinical pharmacogenetic model to predict response of MTX monotherapy in patients with established rheumatoid arthritis after DMARD failure. *Pharmacogenomics.* 2012;13(9):1087-94.
78. Haskó G, Antonioli L, Cronstein BN. Adenosine metabolism, immunity and joint health. *Biochemical pharmacology.* 2018;151:307-13.
79. Montesinos MC, Desai A, Delano D, Chen JF, Fink JS, Jacobson MA et al. Adenosine A2A or A3 receptors are required for inhibition of inflammation by methotrexate and its analog MX68. *Arthritis & Rheumatism.* 2003;48(1):240-7.
80. Varani K, Padovan M, Vincenzi F, Targa M, Trotta F, Govoni M et al. A2A and A3 adenosine receptor expression in rheumatoid arthritis: upregulation, inverse correlation with disease activity score and suppression of inflammatory cytokine and metalloproteinase release. *Arthritis research & therapy.* 2011;13(6):1-3.
81. Hider SL, Thomson W, Mack LF, Armstrong DJ, Shadforth M, Bruce IN. Polymorphisms within the adenosine receptor 2a gene are associated with adverse events in RA patients treated with MTX. *Rheumatology.* 2008;47(8):1156–9.
82. Kobold N, Jenko B, Tomšič M, Dolžan V, Praprotnik S. ADORA2A Polymorphisms Influence Methotrexate Adverse Events in Rheumatoid Arthritis. *The Israel Medical Association Journal: IMAJ.* 2019;21(5):333-8.
83. Soukup T, Dosedel M, Nekvindova J, Antonin Kubena A, Tacheci I, Duintjer Tebbens J et al. The plausible association of MTHFR and ADORA2A polymorphisms with nodules in rheumatoid arthritis patients treated with methotrexate. *Pharmacogenetics and Genomics.* 2017;27(2):43-50.
84. Collins JE, Johansson FD, Gale S, Kim S, Shrestha S, Sontag D et al. Predicting remission among patients with rheumatoid arthritis starting tocilizumab monotherapy: model derivation and remission score development. *ACR Open Rheumatology.* 2020;2(2):65-73.
85. Jenko B, Tomšič M, Jekić B, Milić V, Dolžan V, Praprotnik S. Clinical pharmacogenetic models of treatment response to methotrexate monotherapy in Slovenian and Serbian rheumatoid arthritis patients: differences in patient’s management may preclude generalization of the models. *Frontiers in pharmacology.* 2018;9:20.
86. Pjevic MD, Bumbasirevic LB, Vojvodic L, Grk M, Maksimovic N, Damjanovic T et al. Analysis of the association between polymorphisms within PAI-1 and ACE genes and ischemic stroke outcome after rt-PA therapy. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences.* 2019;22:142-9
87. Dusanovic Pjevic M, Jekic B, Beslac Bumbasirevic L, Vojvodic L, Damjanovic T, Grk M et al. TT genotype of the MMP-9-1562C/T polymorphism may be a risk factor for thrombolytic therapy-induced hemorrhagic complications after acute ischemic stroke. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.* 2021;41(7):562-71.
88. Berlacher M, Mastouri R, Philips S, Skaar TC, Kreutz RP. Common genetic polymorphisms of adenosine A2A receptor do not influence response to regadenoson. *Pharmacogenomics.* 2017;18(6):523-9.

89. Turčin A, Dolžan V, Porcelli S, Serretti A, Plesničar BK. Adenosine hypothesis of antipsychotic drugs revisited: pharmacogenomics variation in nonacute schizophrenia. *Omics: A Journal of Integrative Biology*. 2016;20(5):283-9.
90. Relling MV, Schwab M, Whirl-Carrillo M, Suarez-Kurtz G, Pui CH, Stein CM et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guideline for thiopurine dosing based on TPMT and NUDT 15 genotypes: 2018 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2019;105(5):1095-105.
91. Lima JJ, Thomas CD, Barbarino J, Desta Z, Van Driest SL, El Rouby N et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2C19 and proton pump inhibitor dosing. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2021;109(6):1417-23.



MOLEKULARNA BIOLOGIJA BILJAKA

MOLECULAR BIOLOGY OF PLANTS





“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

TRENDOVI 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