

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**

Značaj farmakogenetike u terapijskom pristupu akutnog ishemijskog moždanog udara rekombinovanim tkivnim aktivatorom plazminogena

Marija Dušanović Pjević

Institut za humanu genetiku Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Kontakt: marija.dusanovic-pjevic@med.bg.ac.rs

Apstrakt

Ishemijski moždani udar (IMU) je praćen visokom incidencijom invaliditeta i mortaliteta širom sveta. Trombolitička terapija rekombinovanim tkivnim aktivatorom plazminogena (rtPA) predstavlja jedinu odobrenu terapiju u lečenju akutnog IMU (AIMU). Pokazano je da primena rtPA terapije dovodi do boljeg funkcionalnog oporavka pacijenata nakon AIMU. Međutim, kod određenog broja pacijenata, rtPA terapija je praćena neželjenim efektima, što značajno utiče na njihov oporavak.

Genske varijante, ne samo da utiču na predispoziciju za IMU, već i na terapijski odgovor i klinički ishod same bolesti. Usled velikih interindividualnih varijacija u odgovoru na primljenu trombolitičku terapiju, farmakogenetika se sve više fokusira na ispitivanje uticaja genskih varijanti nakon primene pomenute terapije za lečenje AIMU, imajući u vidu da su već neke polimorfne varijante povezane sa različitim odgovorom na rtPA terapiju, tokom same bolesti, ali i javljanjem rtPA-indukovanih hemoragijskih komplikacija.

U poslednjih 20 godina, farmakogenetičke rtPA studije su pokušavale da pronađu genske faktore rizika povezane sa odgovorom na rtPA terapiju. Većina ovih studija koristila je studije ispitivanja gena kandidata. Međutim, nedavne studije asocijacije kompletnog genoma su ukazale na to da bi genska predispozicija mogla da utiče na rtPA odgovor.

Cilj ovog rada je prikaz dosadašnjih rezultata o genima i genskim varijantama povezanih sa hemoragijskim komplikacijama i stepenom rekanalizacije nakon rtPA terapije kod pacijenata sa AIMU, kao i doprinosa doktorske distertacije pod nazivom „Ispitivanje povezanosti polimorfizama gena koji regulišu fibrinolizu i integritet vanćelijskog matriksa sa efektima terapije ishemijskog moždanog udara rekombinovanim tkivnim aktivatorom plazminogena” postojećim znanjima o uticaju genskih varijanti na oporavak pacijenata nakon AIMU lečenog rtPA terapijom.

Ključne reči: farmakogenetika, ishemijski moždani udar, tkivni aktivator plazminogena

Importance of pharmacogenetics for ischemic stroke therapy with recombinant tissue plasminogen activator

Marija Dušanović Pjević

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

Correspondence: marija.dusanovic-pjevic@med.bg.ac.rs

Abstract

Ischemic stroke (IS) is a major global health concern with high rates of disability and mortality. The approved treatment for acute ischemic stroke is thrombolytic therapy, which involves using recombinant tissue plasminogen activator (rtPA). While rtPA therapy has been shown to improve functional recovery in patients, it also has drawbacks and can lead to adverse effects that hinder patient recovery.

Genetic variations not only affect the susceptibility to ischemic stroke but also play a role in determining the response to rtPA treatment and clinical outcomes. To better understand the individual variability in response to thrombolytic therapy, pharmacogenetic studies are focusing on investigating the influence of genetic variations. These studies aim to identify specific genetic variants associated with different responses to rtPA therapy and the occurrence of rtPA-induced hemorrhagic complications.

Traditionally, candidate gene strategies have been used in pharmacogenetic studies of rtPA. However, recent advancements in genome-wide association studies (GWAS) have suggested that genetic predisposition may have an impact on the response to rtPA.

This study aims to present current findings on genes and genetic variations linked to hemorrhagic transformation and recanalization rates following rtPA therapy in patients with acute ischemic stroke. It also highlights insights provided by a doctoral dissertation titled "Analysis of the association between polymorphisms within genes which regulate fibrinolysis and extracellular matrix integrity with the effects of ischemic stroke therapy with recombinant tissue plasminogen activator". The research contributes to our understanding of how gene variants can affect patient recovery after acute ischemic stroke treated with rtPA therapy.

Key words: pharmacogenetics, ischemic stroke, tissue plasminogen activator

Ishemijski moždani udar

Ishemijski moždani udar (IMU) je praćen visokom incidencijom invaliditeta i mortaliteta širom sveta (1). IMU nastaje usled redukovano, ili potpunog prekida cirkulacije u određenim regionima mozga nakon okluzije krvnog suda embolusom, ili razvojem tromboze in situ (2). Funkcija neurona unutar centralne zone ishemije ireverzibilno je oštećena, za razliku od neurona unutar zone penumbre, smeštene oko centralnog ishemijskog jezgra. U penumbri, neuroni su izmenjene funkcije, ali strukturalno intaktni, pa je još uvek moguće oporaviti njihovu funkciju. Međutim, ukoliko se rekanalizacija ne uspostavi na vreme, dolazi do ireverzibilnog strukturnog i funkcionalnog oštećenja ovih neurona, odnosno ishemijske nekroze i u zoni penumbre, što značajno povećava neurološki deficit tj. stepen invaliditeta (3). IMU predstavlja veoma kompleksno oboljenje u čijem nastanku učestvuju, kako genski, tako i faktori rizika i sredine (4).

Terapija akutnog ishemijskog moždanog udara

U poslednje dve decenije, terapija akutnog IMU (AIMU) fokusira se na smanjenju, a uporedo i sprečavanju dodatnog širenja moždane ishemije sa ciljem postizanja blagovremene rekanalizacije okludirane arterije i reperfuzije ishemijskog tkiva, uspostavljanju kolateralnog krvotoka, kao i sprečavanju sekundarnih oštećenja moždanog tkiva (5). Trombolitička terapija rekombinovanim tkivnim aktivatorom plazminogena (rtPA) zajedno sa mehaničkom ekstrakcijom tromba (trombektomijom) jedine su dozvoljene terapije AIMU u svetu. Međutim, iako je rtPA terapija zlatni standard u lečenju AIMU, benefiti ove terapije često su u senci komplikacija koje za sobom povlači njena primena gde su studije pokazale da je šest do sedam puta povećan rizik od intrakranijalnog krvarenja nakon primene ovog leka, što predstavlja ozbiljno terapijsko ograničenje rtPA terapije (6). Imajući u vidu da se radi o terapiji sa potencijalno izuzetno teškim neželjenim efektima, aplikacija trombolitičke terapije kod pacijenata sa AIMU je strogo regulisana međunarodnim smernicama i protokolima (7,8), striktno vodeći računa o poznavanju tačnog vremena početka prvih simptoma AIMU. Terapijski prozor, vremenski okvir unutar kog se smatra da primena trombolitičke terapije ima veću korist u odnosu na moguće neželjene efekte, iznosi tri do četiri i po sata (9). Takođe, zbog destruktivnog dejstva rtPA na bazalnu membranu i vanćelijski matriks, može doći do popuštanja krvno-moždane barijere (KMB) i najozbiljnije komplikacije trombolitičke terapije- intrakranijalnog krvarenja (10). Hemoragijska transformacija (HT) predstavlja bilo koje krvarenje u regionu ishemije nakon IMU, koje može da varira od mikroskopski vidljivih krvarenja do velikih hemoragija (11), a koja se u 3% slučajeva završava smrtnim ishodom (12). U skladu sa ECASS (*engl.* European Cooperative Acute Stroke Study) II kriterijumima, a na osnovu radiografskih nalaza, HT se može podeliti na hemoragijske infarkte (tip I i II) i parenhimske hematome (tip I i II) (13). Najtežu prezentaciju post-rtPA neželjenih efekata predstavlja simptomatska intrakranijalna hemoragija (sICH) koja se javlja sa učestalošću između 2% i 7% u različitim populacijama, a definisana je kao bilo koji tip intrakranijalne hemoragije povezan sa neurološkim i funkcionalnim pogoršanjem unutar sedam dana od primene trombolitičke terapije, ili dovodi do smrtnog ishoda pacijenta kao direktnim uzrokom (13,14).

Uprkos činjenici da samo mali broj pacijenata sa AIMU primi trombolitičku terapiju, pacijenti u terapijskom prozoru za primenu iste, imaju veće dugoročno preživljavanje i niže stope mortaliteta, kao i bolji funkcionalni oporavak (15) i značajno poboljšan kvalitet života nakon IMU (16). Međutim, kod 40% pacijenata rekanalizacija se uopšte ne uspostavi, ili se uspostavi kada je već došlo do ireverzibilnog oštećenja neurona (17). Duže vreme potrebno za rekanalizaciju nakon primene rtPA u visokoj je korelaciji sa veličinom infarktne lezije, posledično sa lošijim neurološkim ishodom i lošijim oporavkom nakon AIMU (18). Efikasnost rtPA terapije ogleda se u brzini i obimu rekanalizacije zahvaćenog krvnog suda. Sa druge strane, efikasnost rtPA terapije je smanjena usled pojave neželjenih efekata, kao što su HT, reokluzija krvnog suda, neurološka ekscitotoksičnost ili oštećenja KMB koja vode dodatnom oštećenju moždanog parenhima (19).

U cilju poboljšanja sigurnosti i ishoda terapije rekombinovanim tkivnim aktivatorom plazminogena, sve je veće interesovanje za pronalazak novih biomarkera, kao potencijalnih prediktora HT i drugih neželjenih ishoda ove terapije. Identifikacija faktora koji predviđaju efikasnost rtPA bila bi značajna za tretman pacijenata sa IMU, posebno onih za koje se ispostavi da nemaju odgovarajući odgovor na rtPA, jer kod ovih pacijenata, primena rtPA sa dodatnim koadjuvantim lekovima mogla bi biti efikasnija nego lečenje samo sa rtPA.

Genetička osnova ishemijskog moždanog udara

Studije asocijacije kompletnog genoma (*engl.* Genome wide association studies- GWAS) potvrdile su oko 30 genskih lokusa povezanih sa nastankom IMU, podtipovima IMU, kao i ishodima nakon IMU. Osim njih, i studije ispitivanja gena kandidata, metode sekvenciranja nove generacije (*engl.* Next generation sequencing- NGS), kao i metode sekvenciranja celog genoma (*engl.* Whole genome sequencing- WGS) doprinele su ovim saznanjima. Uz pomoć navedenih molekularno-genetičkih metoda moguće je pronaći potencijalne gene povezane sa različitim bolestima, među kojima je i IMU (20). Sa druge strane, brojne studije ukazale su na postojanje genetičkih osnova u efektima rtPA terapije, oporavku pacijenata nakon primene iste, ali i komplikacijama nakon navedene terapije.

Farmakogenetika

Farmakogenetika predstavlja modernu disciplinu koja se bazira na otkrivanju individualnih genskih varijanti koje utiču na efikasnost ili toksičnost lekova (21,22). Primarni cilj farmakogenetike je detekcija onih pacijenata za koje je veća verovatnoća da će imati koristi od određene intervencije korišćenjem njihovih genetičkih informacija za odabir odgovarajućeg tretmana lečenja. Farmakogenetika ima za cilj da iskoristi ovo znanje za razvoj personalizovanih pristupa medicine, prilagođavajući izbor lekova i njihovo doziranje genskom profilu pojedinca. Razumevanjem genskog profila pacijenta, mogao bi se optimizovati izbor lečenja, poboljšati terapijski ishod i smanjiti neželjene reakcije nakon primene konkretnog leka (23). Farmakogenetika AIMU se bazira na ispitivanju polimorfizama različitih gena kako bi se utvrdio njihov uticaj na šarenolik odgovor na rtPA terapiju kod pacijenata sa AIMU. Razlozi zašto se kod određenog broja pacijenata razvije HT, kao i zašto neki pacijenti bolje, a drugi lošije odgovore na rtPA terapiju su brojni, ali i dalje nisu do kraja razjašnjeni. Poznavanje faktora rizika i patofizioloških mehanizama HT nakon trombolitičke terapije mogu da smanje rizik od nastanka ove komplikacije kod pacijenata u riziku (24). Usled velikih interindividualnih varijacija u odgovoru na primljenu trombolitičku terapiju, farmakogenetika se sve više fokusira na ispitivanje uticaja genskih varijanti nakon primene pomenute terapije za lečenje IMU, imajući u vidu da su već neke SNP (*engl.* Single Nucleotide Polymorphism - SNP) varijante povezane sa odgovorom na rtPA terapiju, tokom same bolesti, ali i javljanjem hemoragijskih komplikacija nakon primljene trombolitičke terapije (25).

Iako je opisana ogromna interindividualna varijabilnost u odgovoru na rtPA terapiju kod pacijenata sa AIMU (26), ne tako veliki broj studija se bavio farmakogenetikom rtPA. Nekoliko studija udruženosti gena kandidata i samo jedna GWAS korišćene su za ispitivanje moguće povezanosti različitih polimorfizama i odgovora na rtPA terapiju, ili pojavu neželjenih efekata nakon primene pomenute terapije.

Geni povezani sa efektima rtPA terapije AIMU

Klinički ishod nakon IMU je veoma raznolik i zavisi od mnogo faktora (27) među kojima su starost pacijenta, vreme započinjanja terapije, lokalizacija zahvaćenog dela mozga, kao i težina IMU (28). Do funkcionalnog oporavka nakon IMU može se doći brzo, a može da traje mesecima i godinama. Takođe, stepen

oporavka može značajno da varira od potpunog oporavka do trajne i teške onesposobljenosti ili smrtnog ishoda. Procena ishoda je, prema tome, veoma teška i nepouzdana i zavisi od više faktora, sa nejasnim ili ograničenim uticajem. Uticaj genetičke varijabilnosti na mogućnost i stepen funkcionalnog oporavka nakon IMU sve je više u žiži interesovanja. U načelu, studije koje su se bavile ovom tematikom svoja istraživanja najčešće su delila u dva segmenta: ispitivanje povezanosti polimorfnih genskih varijanti i odgovorom na rtPA terapiju, odnosno stepenom rekanalizacije zahvaćenog krvnog suda sa jedne strane i povezanosti SNP varijanti sa pojavom neželjenih efekata nakon primene rtPA terapije, sa druge strane.

Polimorfne genske varijante povezane sa odgovorom na rtPA terapiju i stepenom rekanalizacije nakon rtPA

Svega par studija su ispitivale stepen rekanalizacije zahvaćenog cerebralnog krvnog suda kod pacijenata lečenih rtPA terapijom nakon AIMU. Najverovatniji razlog za mali broj ovih studija je kompleksnost i potreba za adekvatnom aparaturom i stručnim kadrom u bolnicama, imajući u vidu da se ovo ispitivanje ne radi rutinski. Ipak, postoji nekoliko studija koje su analizirale povezanost genske predispozicije i stepena rekanalizacije nakon rtPA terapije kod pacijenata sa AIMU.

Studija koja je analizirala I/D polimorfizam *ACE* gena otkrila je da su pacijenti, nosioci DD genotipa, imali bolji stepen rekanalizacije u poređenju sa pacijentima drugih genotipova nakon AIMU. Dodatno, u istoj studiji je pronačena pojava hemoragijskih komplikacija nakon rtPA terapije, ali statistička značajnost nije potvrđena (29).

Trombinom aktivirani inhibitor fibrinolize (*TAFI*) je molekul koji direktno povezuje procese koagulacije i fibrinolize i koji utiče na stopu rekanalizacije. Supstitucija aminokiseline Thr325Ile u kodirajućem regionu *TAFI* gena povećava njegovu aktivnost (30,31). Dva funkcionalna polimorfizma inhibitora fibrinolize, *TAFI* (-1040 C/T- rs1926447) i *PAI-1* (4G/5G- rs1799889) gena, ukazala su na značaj gen-gen interakcije jer kombinacija genotipova (*TAFI* TT homozigoti i osobe sa *PAI-1* 4G alelom) ova dva polimorfizma povećava rizik za rezistenciju na rekanalizaciju nakon primene rtPA terapije (32).

Jedna od najvećih studija koja je ispitivala stepen rekanalizacije okludiranog krvnog suda nakon primene rtPA terapije kod pacijenata sa AIMU obuhvatala je 497 pacijenata, a ispitivala je 140 SNP varijante (33). Tri polimorfizma, dva unutar *IL-1 β* gena (rs1143627 i rs16944) i jedan unutar *vWF* gena (rs1063856), ukazali su na njihovu povezanost sa stepenom rekanalizacije nakon rtPA. Dok je IL-1 β proinflamatorni citokin, protein kodiran *vWF* genom važan je, kako u procesu hemostaze kao antihemofilni faktor, tako i u adheziji trombocita za zid krvnog suda u procesu koagulacije (33). Osobe sa TC haplotipom *IL-1 β* gena (rs1143627 i rs16944) imale su veće vrednosti IL-1 β u plazmi i visok stepen rekanalizacije jedan sat nakon rtPA administracije. Takođe, uočena je značajna povezanost GG genotipa rs1063856 polimorfizma *vWF* gena i nižih vrednosti faktora koagulacije VIII sa bržom rekanalizacijom kod pacijenata nakon IMU.

Sve farmakogenetičke studije o rekanalizaciji su se uglavnom fokusirale na sistem koagulacije/fibrinolize, međutim, još uvek nisu sprovedene nepristrasne studije na nivou genoma u ovoj oblasti. Upravo bi GWAS mogle dati informacije o novim genskim varijantama koje su povezane sa revaskularizacijom kod pacijenata koji su tretirani rtPA, a da to nisu bile varijante izabrane iz studija gena kandidata.

Polimorfne genske varijante povezane sa pojavom hemoragijskih komplikacija nakon rtPA terapije

Za razliku od malobrojnih studija koje su direktno pratile stepen rekanalizacije nakon primene rtPA, u literaturi se može pronaći nešto veći broj studija koje su ispitivale efikasnost ove terapije, odnosno funk-

cionalni oporavak pacijenata nakon pomenute terapije, kao i pojavu neželjenih efekata, prvenstveno hemoragijskih, nakon primene iste.

Veliki broj genetičkih studija je bio usmeren na ispitivanje povezanosti funkcionalnih polimorfizama unutar gena čiji produkti učestvuju u koagulaciji i odgovoru na rtPA terapiju, kao i pojavu neželjenih efekata nakon primene iste.

Faktor XIII (FXIII) predstavlja važan element u koagulacionoj kaskadi. Njegova uloga se ogleda u dodatnoj stabilizaciji tromba tako što formira poprečne veze unutar njega, što otežava njegovu razgradnju (30,34). Val34Leu polimorfizam *FXIII* gena proučavan je u različitim kardiovaskularnim bolestima, međutim, njegova uloga nije najjasnija usled oprečnih rezultata (34,35). Kada se radi o IMU, neke studije su ukazale da je alel Leu faktor rizika, kako za hemoragijski, tako i za ishemijski moždani udar (36), međutim, druge studije nisu ovo potvrdile (37). Studija koja je ispitala uticaj ovog polimorfizma na pojavu neželjenih efekata rtPA terapije uočila je da su pacijenti sa Val/Val genotipom ređe imali sICH u poređenju sa nosiocima Leu alela. Štaviše, pacijenti sa Val/Val genotipom su imali nižu stopu mortaliteta. Dodatno, Val/Val genotip Val34Leu polimorfizma *FXIII* gena zajedno sa nižim vrednostima fibrinogena u krvi (<3,6 g/l) povezan je sa boljim oporavkom pacijenata sa IMU lečenih rtPA terapijom i nižim mortalitetom (38). Sa druge strane, u nedavno sprovedenoj studiji nije uočena asocijacija Val34Leu, ali ni drugih polimorfizama *FXIII* gena i pojave HT (39). Međutim, u istoj studiji, nivoi FXIII u plazmi su bili povezani sa smrtnošću nakon rtPA terapije.

Inhibitor aktivatora plazminogena-1 (PAI-1) predstavlja glavni inhibitor endogene fibrinolitičke aktivnosti tako što se vezuje za tkivni aktivator plazminogena (tPA), zajedno formirajući neaktivan kompleks (40). Interakcija između primarnog medijatora fibrinolize- tPA i njegovog inhibitora- PAI-1 direktno reguliše stvaranje ili razgradnju tromba (41). U poslednjih nekoliko godina 4G/5G polimorfizam *PAI-1* gena je najčešće analiziran *PAI-1* polimorfizam, kako kod različitih cerebrovaskularnih oboljenja, uključujući IMU, tako i kod brojnih drugih oboljenja kao što su infarkt miokarda (42), trombofilije (43), spontani pobačaji (44) i drugi. *PAI-1* 4G/5G polimorfizam je povezan sa nivoom PAI-1 u plazmi, tako što je 4G alelna varijanta u vezi sa višim koncentracijama PAI-1 u plazmi (45). Dodatno, studije *in vivo* su pokazale da osobe homozigoti za 4G alel imaju najviše nivoe PAI-1 u plazmi, dok su kod osoba homozigota za 5G alel ovi nivoi najniži (46). Viši nivoi PAI-1 u plazmi uočeni su kod osoba sa IMU (47).

Studija sprovedena na 165 pacijenata sa IMU, ukazala je na moguću povezanost 4G/4G genotipa sa lošijim oporavkom pacijenata sa IMU lečenih rtPA. U pomenutoj studiji oporavak pacijenata je procenjivan na osnovu skora modifikovane Rankin skale (mRS) i stepena rekanalizacije. Sa druge strane, u istoj studiji povezanost genotipova 4G/5G polimorfizma i pojave rtPA indukovane HT je izostala (48). Saglasno sa ovim rezultatima, studija na 94 pacijenta koju su sproveli Dušanović Pjević i saradnici, takođe, nije potvrdila povezanost 4G/5G polimorfizma *PAI-1* gena i oporavka pacijenata nakon IMU kao ni pojave HT kod pacijenata sa AIMU lečenih rtPA terapijom (49). Sa druge strane, Szegedi i saradnici su u svojoj studiji, koja je uključila 131 uzastopna pacijenta sa IMU lečenih rtPA, uočili povezanost 4G/5G polimorfizma *PAI-1* gena i pojave HT (50). Međutim, u istoj studiji nisu uočili povezanost ovog polimorfizma sa oporavkom pacijenata nakon IMU, niti sa nivoima PAI-1 u plazmi.

Drugi inhibitori rtPA, kao što je neuroserpin, povezivani su sa pojavom parenhimskog hematoma (PH) (51). Neuroserpin je prirodni inhibitor tPA koji je ekspimiran u moždanom tkivu. Nivoi neuroserpina pre rtPA bili su povezani sa javljanjem PH i sa funkcionalnim oporavkom nakon moždanog udara u grupi od 80 pacijenata sa IMU. Međutim, ne postoje farmakogenetičke studije koje su analizirale pojedinačne polimorfne varijante unutar gena koji kodira neuroserpin i efikasnosti rtPA, već samo studije gena kandidata koje ana-

liziraju ulogu SNP varijanti unutar gena za neuroserpin i rizika za nastanak IMU kod osoba mlađe starosne dobi (52).

Pored faktora koji direktno učestvuju u koagulaciji, a koji se mogu dovesti u vezi sa efikasnošću rtPA terapije, ili pojavom neželjenih efekata nakon primene iste, postoje i drugi faktori koji nisu u direktnoj vezi sa koagulaciono/fibrinoliznim sistemom, a koji bi, takođe, mogli da utiču na ishod rtPA terapije.

Angiotenzin konvertujući enzim (ACE) katalizuje transformaciju angiotenzina I u angiotenzin II. Predstavlja značajan enzim u renin-angiotenzin-aldosteron (RAAS) i kinin-kalikrein sistemu (53). ACE ima značajnu ulogu u vaskularnom remodelovanju, aterosklerozi, razvoju hipertenzije i cerebrovaskularnih bolesti, uključujući IMU (54–56). U intronu 16 *ACE* gena, smešten je inserciono/delecioni (I/D) polimorfizam koji utiče na nivo ACE u krvi (57) budući da je D alel navedenog polimorfizma povezan sa višim nivoima ACE u plazmi. Alel D je takođe povezan sa višim nivoima PAI-1 u krvi (58,59), a posledično je povezan sa slabijim stepenom rekanalizacije nakon rtPA terapije (59). Fernández-Cadenas sa saradnicima ispitivao je I/D polimorfizam u odnosu na pojavu HT i stepenom rekanalizacije kod pacijenata sa IMU lečenih rtPA terapijom, ali nisu uočili povezanost ovog polimorfizma i pojave HT (29). Suprotno ovim rezultatima, u nešto skorijoj studiji koju su sprovedli Dusanovic Pjevic i saradnici uočena je povezanost I/D polimorfizma *ACE* gena i pojave HT kod pacijenata lečenih rtPA nakon AIMU (49).

Broderick sa saradnicima je u svojoj studiji ispitivao *ApoE* gen i uočio je da je efikasnost rtPA terapije bila bolja kod osoba sa *ApoE* E2 genotipom (60).

Del Rio-Espinola sa saradnicima je sproveo kompleksnu studiju u kojoj su korišćeni kliničko genetički podaci sa ciljem da se predvidi pojava HT kod pacijenata sa IMU nakon primene rtPA (61). U ovoj studiji autori su analizirali 140 SNP varijanti iz 97 gena kandidata kod 1172 pacijenata koji su lečeni rtPA terapijom. Među ovim polimorfizmima posebno se istakao Val1000Ile (rs669) polimorfizam unutar gena za alfa-2-makroglobulin koji je povezan sa nastankom HT, kao i rs1801020 polimorfizmom unutar gena koji kodira FXII. Autori su koristili genetičke informacije i kliničke podatke za generisanje rezultata za predviđanje HT. Koristeći logističku regresiju, odabrali su značajne i nezavisne varijable koje su uključili u rezultat. Ovaj rezultat nazvan i Genot-PA, povezan sa HT, nezavisno je ponovljen u drugoj studiji koja je koristila kohortu od 1324 pacijenta (61). Autori ove studije su ispitivali polimorfizme koje je studija Del Rio-Espinola izdvojila kao polimorfizme od interesa (rs669 i rs1801020) zajedno sa kliničkim varijablama za predikciju HT. Rezultat druge studije bio je u saglasnosti sa rezultatima studije Del Rio-Espinola i saradnika, a dodatno je urađena i predikcija za pojavu HT kod pacijenata lečenih trombektomijom. Ove poslednje dve studije su pokazale potencijalnu potrebu za upotrebom genetike u kombinaciji sa kliničkim podacima kako bi se predvideo efekat rtPA terapije. Međutim, zaključci autora obe navedene studije su da je potrebno da se dobijeni genetički rezultati poboljšaju i dodatno ispituju pre implementacije u kliničku praksu.

Ravnoteža između matriks metaloproteinaza (MMP) i njihovih tkivnih inhibitora (*engl.* Tissue inhibitor of metalloproteinases- TIMP) je veoma značajna. Narušavanje ove ravnoteže dovodi do nekontrolisane aktivnosti MMP i razgradnje proteina vanćelijskog matriksa u različitim patološkim stanjima (62), a kod IMU dovodi do narušavanja KMB što za posledicu može imati hemoragijske komplikacije (63).

Studija koju su sprovedli Inzitari i saradnici analizirala je povezanost nivoa MMP (1-3 i 7-9) i TIMP (1, 2, 4) u plazmi i oporavka pacijenata sa IMU lečenih rtPA terapijom. Studija je uključila 327 pacijenata sa IMU lečenih rtPA terapijom, dok su nivoi MMP i TIMP mereni pre terapije i 24h nakon njene primene. Jedino su se povišeni cirkulišući nivoi MMP-9 pokazali kao nezavisni prediktor lošeg oporavka pacijenata, pojave HT i smrtnog ishoda (64). Nekoliko studija je ukazalo na povezanost nivoa matriks metaloproteinaze 9 u plazmi

i HT nakon rtPA terapije (65,66). Unutar *MMP-9* gena opisano je nekoliko funkcionalnih polimorfizama koji utiču na ekspresiju *MMP-9* gena i posleđično na nivo ovog enzima. Polimorfizam -1562 C/T nalazi se u promotorskom regionu *MMP-9* gena. Uočeno je da T alel ovog polimorfizma povećava aktivnost promotora i posleđično povećava ekspresiju *MMP-9* gena (67). Imajući u vidu ulogu *MMP-9* nakon IMU sa jedne strane, i da se radi o funkcionalnom polimorfizmu koji utiče na različitu ekspresiju *MMP-9* gena sa druge strane, nekoliko studija je ispitivalo uticaj ovog polimorfizma i pojave neželjenih efekata nakon trombolitičke terapije. Iako većina literaturnih podataka ukazuju da je povećan nivo *MMP-9* povezan sa lošijom prognozom kod osoba sa IMU i javljanjem HT, kao i da je koncentracija iRNK *MMP-9* prediktor lošeg oporavka i većeg mortaliteta kod pacijenata sa IMU (68), podaci o povezanosti polimorfizma unutar *MMP-9* gena i funkcionalnog oporavka nakon IMU lečenog rtPA i dalje su nejasni, ali i nedovoljno istraženi (69). Najskorija studija koju su sprovedi Dusanovic Pjevic i saradnici nije otkrila povezanost između *MMP-9* -1562C/T polimorfizma i pojave HT (70) što je u saglasnosti sa rezultatima studija Montaner i saradnika (71) i Fernández-Cadenas i saradnika (72), koji, takođe, nisu uspeli da pronađu asocijaciju između genotipova pomenutog polimorfizma i javljanja HT kod pacijenata sa IMU lečenim rtPA. Dodatno, studija koju su sprovedi Fernández-Cadenas i saradnici, pored toga što je imala veći broj pacijenata u odnosu na prethodne dve pomenute studije, analizirala je sve funkcionalne polimorfizme unutar *MMP-9* gena i autori nisu uspeli da pronađu povezanost ispitivanih polimorfizama *MMP-9* gena i pojave HT, ili bilo koje HT podgrupe pojedinačno (72). Sa druge strane, Dusanovic Pjevic i saradnici (70) su u svojoj studiji daljom analizom unutar podgrupa hemoragijske transformacije, uočili da postoji statistički značajna razlika u učestalosti genotipova *MMP-9* -1562 C/T polimorfizma između pacijenata sa i bez parenhimskog hematoma tip 2 (PH-2). Osobe sa PH-2 statistički značajno češće su imale TT genotip ispitivanog polimorfizma. U istoj studiji je uočena statistički značajna razlika u učestalosti genotipova *MMP-9* -1562 C/T polimorfizma između pacijenata sa i bez neke druge intrakranijalne hemoragije. Osobe kod kojih se razvila neka druga intrakranijalna hemoragija (proširena iz ishemičnih hemoragija - intraventrikularna krvarenja ili SAH) nakon rtPA terapije statistički značajno češće su imale TT genotip ispitivanog polimorfizma. Međutim, potrebne su dodatne studije, na većem broju pacijenata u različitim etničkim grupama kako bi se pravi zaključak o uticaju ovog polimorfizma i pojave hemoragijskih komplikacija nakon rtPA terapije mogao doneti.

Sve navedene studije su se bavile ispitivanjem povezanosti gena kandidata koji bi potencijalno mogli da utiču na oporavak pacijenata nakon IMU lečenih rtPA terapijom. Međutim, uspeh ovih studija je bio veoma skroman. Bezbednost (javljanje HT) i efikasnost (rekanalizacija) rtPA terapije snažno je povezana sa dugoročnim ishodom (invaliditetom) nakon IMU. GWAS je ispitala dugoročni ishod nakon IMU, koristeći mRS skor tri i šest meseci nakon prvih simptoma IMU. Studija o genetičkom doprinosu u funkcionalnom oporavku i invaliditetu nakon moždanog udara (GODs), bila je prva GWAS koja je analizirala dugoročni ishod nakon IMU (73). U studiju je bilo uključeno 2482 pacijenata sa IMU, u koju su bili uključeni pacijenti lečeni sa i bez rtPA, i gde je uočena povezanost između genskih varijanti unutar *PATJ* gena i lošijeg oporavku nakon IMU. Protein kodiran *PATJ* genom povezan je sa integritetom KMB, čije narušavanje nakon IMU je blisko povezano sa pojavom HT nakon trombolize (73).

Jedina GWAS izvedena kod pacijenata sa IMU koji su primili rtPA terapiju objavljena je nedavno (74). Autori su analizirali parenhimske hematome prateći ECASS kriterijume u kohorti pacijenata sa AIMU lečenih rtPA, dok su pacijenti kojima je dodatno urađena trombektomija bili isključeni iz studije. Do danas, ova studija obuhvatila je najveću kohortu pacijenata lečenih rtPA i genetičkim podacima (n=1904). Polimorfna varijanta (rs76484331) unutar *ZBTB46* gena bila je povezana sa PH (n=1324, p=1,61×10⁻⁸), a zatim je potvrđena i u nezavisnom uzorku (n=580, p=0,01). Protein kodiran ovim genom predstavlja faktor transkripcije ekspri-

miran u moždanom tkivu. Zanimljivo je da je poligeniski skor rizika generisan u kohorti otkrića sa 3506 genskih varijanti povezanih sa PH, takođe, povezan sa stepenom invaliditeta i mortaliteta u trećem mesecu nakon AIMU procenjavano mRS skorom. Najznačajnija povezanost bila je u odnosu na dugoročni oporavak (invaliditet u trećem mesecu, $p=1,51 \times 10^{-6}$) koji je ostao značajan nakon logističke regresije uključujući inicijalni skor neurološkog deficita (NIHSS), pol i starost ($p=0,01$) (74). Uzimajući u obzir rezultate GODs projekta i podatke o PH iz GWAS, primećeno je da pojava HT i oporavak nakon IMU zavise od određenih genskih faktora rizika i bioloških mehanizama na koje bi trebalo posebno obratiti pažnju i dodatno i detaljnije proučavati u budućim istraživanjima.

Zaključak

Farmakogenetičke studije koje se bave ispitivanjem uticaja rtPA terapije na oporavak pacijenata i pojavu neželjenih efekata nakon primene ove terapije kod pacijenata sa AIMU sprovode se unazad dve decenije. Većina ovih studija se bazirala na ispitivanju polimorfničkih varijanti unutar različitih gena, uglavnom koristeći strategije gena kandidata, dok je sprovedena samo jedna GWAS kojoj je ovo bio primarni cilj istraživanja, dok je druga GWAS sa istim ciljem još uvek u toku. Iako nema dovoljno podataka, GWAS su ukazale da bi genetička pozadina mogla da utiče na odgovor pacijenta na rtPA terapiju. Konkretno, cerebralna krvarenja nakon rtPA terapije mogu biti posledica genskih faktora rizika. Pored toga, stepen rekanalizacije/revaskularizacije bi, takođe, mogao biti povezan sa genskim faktorima rizika. Međutim, samo nekoliko studija, na nedovoljnom broju ispitanika, proučavale su genske faktore i upravo ovaj mali broj uključenih pacijenata predstavlja najveći problem i nedostatak svih rtPA farmakogenetičkih studija, ali treba uzeti u obzir da veoma mali broj pacijenata sa AIMU zadovoljava sve kriterijume za primenu rtPA terapije.

U perspektivi farmakogenetičkih rtPA studija potrebno je uključivanje što većeg broja istraživanja sa ciljem pronalaženja genskih modulatora rtPA terapije. Štaviše, podaci dobijeni GWAS, takođe, mogu se koristiti za razumevanje bioloških mehanizama povezanih sa odgovorom na rtPA terapiju. Dodatno, patofiziološki mehanizmi nastanka hemoragijske transformacije nakon trombolitičke terapije ili odsustvo rane revaskularizacije nakon rtPA još uvek nisu u potpunosti razjašnjeni. Analize signalnih puteva, genskih interakcija i Mendelova randomizacija su analize koje koriste podatke dobijene iz GWAS i koje bi mogle da razjasne biološke mehanizme povezane sa efektima rtPA terapije. Iako se čini da genetika može igrati značajnu ulogu u efikasnosti rtPA terapije kod pacijenata nakon AIMU, za implementaciju farmakogenetike u kliničku praksu potrebni su dosta bolji prediktivni modeli, ali i brzi uređaji i aparatura za određivanje genotipova polimorfizama od interesa.

Zahvalnica

Ovaj rad je podržalo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Srbije (projekti br. 175087 i 175091).

Literatura

1. Feigin VL, Roth GA, Naghavi M, Parmar P, Krishnamurthi R, Chugh S, et al. Global burden of stroke and risk factors in 188 countries, during 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Neurol.* 2016;15(9):913–24.
2. Sacco RL, Kasner SE, Broderick JP, Caplan LR, Connors JJ, Culebras A, et al. An updated definition of stroke for the 21st century: A statement for healthcare professionals from the American heart association/American stroke association. *Stroke.* 2013;44(7):2064–89.
3. Astrup J. Energy-requiring cell functions in the ischemic brain. Their critical supply and possible inhibition in protective therapy. *J Neurosurg.* 1982;56(4):482–97.
4. Boehme AK, Esenwa C, Elkind MSV. Stroke Risk Factors, Genetics, and Prevention. *Circ Res.* 2017;120(3):472–95.
5. Rabinstein AA. Treatment of Acute Ischemic Stroke. *Contin Lifelong Learn Neurol.* 2017;23(1):62–81.
6. Whiteley WN, Emberson J, Lees KR, Blackwell L, Albers G, Bluhmki E, et al. Risk of intracerebral haemorrhage with alteplase after acute ischaemic stroke: a secondary analysis of an individual patient data meta-analysis. *Lancet Neurol.* 2016;15(9):925–33.
7. Powers WJ, Rabinstein AA, Ackerson T, Adeoye OM, Bambakidis NC, Becker K, et al. 2018 Guidelines for the Early Management of Patients With Acute Ischemic Stroke: A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. Vol. 49, *Stroke.* 2018. 46–110 p.
8. Čovičković Šternić N, Beslač Bumbaširević L, Žarkov M, Raičević R, Tončev G, Živković M, et al. Nacionalni vodič dobre kliničke prakse- Ishemijski moždani udar. Agencija za akreditaciju zdravstvenih ustanova Srbije. 2012.
9. Del Zoppo GJ, Saver JL, Jauch EC, Adams HP. Expansion of the time window for treatment of acute ischemic stroke with intravenous tissue plasminogen activator: A science advisory from the American heart association/american stroke association. *Stroke.* 2009;40(8):2945–8.
10. Zaheer Z, Robinson T, Mistri AK. Thrombolysis in acute ischaemic stroke: An update. *Ther Adv Chronic Dis.* 2011;2(2):119–31.
11. Jickling GC, Liu D, Stamova B, Ander BP, Zhan X, Lu A, et al. Hemorrhagic transformation after ischemic stroke in animals and humans. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34(2):185–99.
12. Kane I, Sandercock P. Alteplase: Thrombolysis for acute ischemic stroke. *Therapy.* 2005;2(5):709–16.
13. Larrue V, Von Kummer R, Müller A, Bluhmki E. Risk factors for severe hemorrhagic transformation in ischemic stroke patients treated with recombinant tissue plasminogen activator: A secondary analysis of the European-Australasian Acute Stroke Study (ECASS II). *Stroke.* 2001;32(2):438–41.
14. Strbian D, Sairanen T, Meretoja A, Pitkääniemi J, Putaala J, Salonen O, et al. Patient outcomes from symptomatic intracerebral hemorrhage after stroke thrombolysis. *Neurology.* 2011;77(4):341–8.
15. Muret W, Rudd A, Wolfe CDA, Douiri A. Long-term survival after intravenous thrombolysis for ischemic stroke: A propensity score-matched cohort with up to 10-year follow-up. *Stroke.* 2018;49(3):607–13.
16. Boudreau DM, Guzauskas GF, Chen E, Lalla D, Tayama D, Fagan SC, et al. Cost-effectiveness of recombinant tissue-type plasminogen activator within 3 hours of acute ischemic stroke: Current evidence. *Stroke.* 2014;45(10):3032–9.
17. Sheehan JJ, Tsirka SE. Fibrin-modifying serine proteases thrombin, tPA, and plasmin in ischemic stroke: a review. *Glia.* 2005;50(4):340–50.
18. Adams H, Bendixen B, Kappelle L, Biller J, Love B, Gordon D, et al. Classification of subtype of acute ischemic stroke. Definitions for use in a multicenter clinical trial. TOAST. Trial of Org 10172 in Acute Stroke Treatment. *Stroke.* 1993;24(1):35–41.
19. Mican J, Toul M, Bednar D, Damborsky J. Structural Biology and Protein Engineering of Thrombolytics. *Comput Struct Biotechnol J.* 2019;17:917–38.
20. Malik R, Chauhan G, Traylor M, Sargurupremraj M, Okada Y, Mishra A, Rutten-Jacobs L, Giese AK, van der Laan SW, Gretarsdottir S, Anderson CD, Chong M, Adams HHH, Ago T, Almgren P, Amouyel P, Ay H, Bartz TM, Benavente OR, Bevan S, Boncoraglio GB, Brown RD YSAfgCC for H and AR in GE (CHARGE) C. Multiancestry genome-wide association study of 520,000 subjects identifies 32 loci associated with stroke and stroke subtypes. *Nat Genet.* 2018;50(4):524–37.
21. Relling M, Evans WE. Pharmacogenomics in the clinic. *Nature.* 2015;526(7573):343–50.
22. Billeci AM, Agnelli G, Caso V. Stroke pharmacogenomics. *Expert Opin Pharmacother.* 2009;10(18):2947–57.
23. Verbelen M, Weale ME, Lewis CM. Cost-effectiveness of pharmacogenetic-guided treatment: Are we there yet? *Pharmacogenomics J.* 2017;17(5):35–402.

24. Lansberg MG, Albers GW, Wijman CAC. Symptomatic intracerebral hemorrhage following thrombolytic therapy for acute ischemic stroke: A review of the risk factors. *Cerebrovasc Dis.* 2007;24(1):1–10.
25. National Institute of Neurological Disorders and Stroke rt-PA Stroke Study Group. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med.* 1995;333(24):1581–7.
26. Brott T, Broderick J, Kothari R, O'Donoghue M, Barsan WG, Tomsick T, et al. Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke. *N Engl J Med.* 1995;333:1581–8.
27. Zaleska MM, Mercado MLT, Chavez J, Feuerstein GZ, Pangalos MN, Wood A. The development of stroke therapeutics: Promising mechanisms and translational challenges. *Neuropharmacology.* 2009;56(2):329–41.
28. Pekna M, Pekny M, Nilsson M. Modulation of neural plasticity as a basis for stroke rehabilitation. *Stroke.* 2012;43(10):2819–28.
29. Fernández-Cadenas I, Molina CA, Álvarez-Sabín J, Ribó M, Penalba A, Ortega-Torres L, et al. ACE gene polymorphisms influence t-PA-induced brain vessel reopening following ischemic stroke. *Neurosci Lett.* 2006;398(3):167–71.
30. Valnickova, Zuzana Enghild JJ. Human procarboxypeptidase U, or thrombin-activable fibrinolysis inhibitor, is a substrate for transglutaminases: Evidence for transglutaminase-catalyzed cross-linking to fibrin. *J Biol Chem.* 1998;273(42).
31. Brouwers G-J, Vos HL LF. A novel, possibly functional, single nucleotide polymorphism in the coding region of the thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene is also associated with TAFI levels. 2001;98(6):1992–3.
32. Fernandez-Cadenas I, Alvarez-Sabin J, Ribo M, Rubiera M, Mendioroz M, Molina CA, et al. Influence of thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor and plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms on tissue-type plasminogen activator-induced recanalization in ischemic stroke patients. *J Thromb Haemost.* 2007;5(9):1862–8.
33. Fernández-Cadenas I, Del Río-Espínola A, Giralto D, Domingues-Montanari S, Quiroga A, Mendióroz M, et al. IL1B and VWF variants are associated with fibrinolytic early recanalization in patients with ischemic stroke. *Stroke.* 2012;
34. Hancer VS, Diz-Kucukkaya R, Bilge AK, Ozben B, Oncul A, Ergen G, et al. The association between factor XIII Val34Leu polymorphism and early myocardial infarction. *Circ J.* 2006;70(3):239–42.
35. Canavy I, Henry M, Morange PE, Tiret L, Poirier O, Ebagosti A, et al. Genetic polymorphisms and coronary artery disease in the south of France. *Thromb Haemost.* 2000;83(2):212–6.
36. Catto AJ, Kohler HP, Bannan S, Stickland M, Carter A, Grant PJ. Factor XIII Val 34 Lee A Novel Association With Primary Intracerebral Hemorrhage. *Stroke.* 1998;29(4):813–6.
37. Slowik A, Dziedzic T, Pera J, Figlewicz DA, Szczudlik A. Coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism in patients with small vessel disease or primary intracerebral hemorrhage. *Cerebrovasc Dis.* 2005;19(3):165–70.
38. González-Conejero R, Fernández-Cadenas I, Niesta JA, Marti-Fabregas J, Obach V, Alvarez-Sabín J, et al. Role of fibrinogen levels and factor XIII V34L polymorphism in thrombolytic therapy in stroke patients. *Stroke.* 2006;37(9):2288–93.
39. Székely EG, Czuriga-Kovács KR, Bereczky Z, Katona É, Mezei ZA, Nagy A, et al. Low factor XIII levels after intravenous thrombolysis predict short-term mortality in ischemic stroke patients. *Sci Rep.* 2018;8(1):1–9.
40. Lijnen HR. Pleiotropic functions of plasminogen activator inhibitor-1. *J Thromb Haemost.* 2005;3(1):35–45.
41. Vaughan DE. Plasminogen activator inhibitor-1 and the calculus of mortality after myocardial infarction. *Circulation.* 2003;108(4):376–7.
42. Abboud N, Ghazouani L, Saidi S, Ben-Hadj-Khalifa S, Addad F, Almawi WY, et al. Association of PAI-1 4G/5G and -844G/A gene polymorphisms and changes in PAI-1/tissue plasminogen activator levels in myocardial infarction: a case-control study. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2010;14(1):23–7.
43. Sartori MT, Danesin C, Saggiorato G, Tormene D, Simioni P, Spiezia L, et al. The PAI-1 gene 4G/5G Polymorphism and Deep Vein Thrombosis in Patients with Inherited Thrombophilia. *Clin Appl Thromb.* 2003;9(4):299–307.
44. Goodman CS, Coulam CB, Jeyendran RS, Acosta VA, Roussev R. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? *Am J Reprod Immunol.* 2006;56(4):230–6.
45. Vergouwen MD, Frijns CJ, Roos YB, Rinkel GJ, Baas F, Vermeulen M. Plasminogen activator inhibitor-1 4G allele in the 4G/5G promoter polymorphism increases the occurrence of cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke.* 2004;35(6):1280–3.
46. Festa A, D'Agostino R, Rich SS, Jenny NS, Tracy RP, Haffner SM. Promoter (4G/5G) plasminogen activator inhibitor-1 genotype and plasminogen activator inhibitor-1 levels in blacks, hispanics, and non-hispanic whites: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation.* 2003;107(19):2422–7.

47. Margaglione M, Di Minno G, Grandone E, Vecchione G, Celentano E, Cappucci G, et al. Abnormally high circulation levels of tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 in patients with a history of ischemic stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1994;14(11):1741–5.
48. Fernandez-Cadenas I, Del Rio-Espinola A, Rubiera M, Mendioroz M, Domingues-Montanari S, Cuadrado E, et al. PAI-1 4G/5G polymorphism is associated with brain vessel reocclusion after successful fibrinolytic therapy in ischemic stroke patients. *Int J Neurosci.* 2010;120(4):245–51.
49. Dušanović Pjević M, Beslac Bumbaširević L, Vojvodić L, Grk M, Maksimović N, Damnjanović T, et al. Analysis of the Association Between Polymorphisms within PAI-1 and ACE genes and Ischemic Stroke Outcome After rt-PA Therapy. *J Pharm Pharm Sci.* 2019;22(1):142–9.
50. Szegedi I, Nagy A, Székely EG, Czuriga-Kovács KR, Sarkady F, Láncai LI, et al. PAI-1 5G/5G genotype is an independent risk of intracranial hemorrhage in post-lysis stroke patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2019;6(11):2240–50.
51. Rodríguez-González R, Millán M, Sobrino T, Miranda E, Brea D, de la Ossa NP, Blanco M, Perez J, Dorado L, Castellanos M, Lomas DA, Moro MA, Dávalos A CJ. The natural tissue plasminogen activator inhibitor neuroserpin and acute ischaemic stroke outcome. *Thromb Haemost.* 2011;105(3):421–9.
52. Cole JW, Naj AC, O'Connell JR, Stine OC, Sorkin JD, Wozniak MA, et al. Neuroserpin polymorphisms and stroke risk in a biracial population: The stroke prevention in young women study. *BMC Neurol.* 2007;7:1–7.
53. Nakai K, Itoh C, Miura Y, Hotta K, Musha T, Itoh T, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. *Circulation.* 1994;90(5):2199–202.
54. Yuan H, Wang X, Xia Q, Ge P, Wang X, Cao X. Angiotensin converting enzyme (I/D) gene polymorphism contributes to ischemic stroke risk in Caucasian individuals: A meta-analysis based on 22 case-control studies. *Int J Neurosci.* 2016;126(6):488–98.
55. Morishita R, Gibbons GH, Ellison KE, Lee W, Zhang L, Yu H, et al. Evidence for direct local effect of angiotensin in vascular hypertrophy. In vivo gene transfer of angiotensin converting enzyme. *J Clin Invest.* 1994;94(3):978–84.
56. Reynolds M V., Bristow MR, Bush EW, Abraham WT, Lowes BD, Zisman LS, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischaemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet.* 1993;342(8879):1073–5.
57. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest.* 1990;86(4):1343–6.
58. Margaglione M, Grandone E, Vecchione G, Cappucci G, Giuliani N, Colaizzo D, et al. Plasminogen Activator Inhibitor-1 (PAI-1) Antigen Plasma Levels in Subjects Attending a Metabolic Ward: Relation to Polymorphisms of PAI-1 and Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Genes. 1997;1:2082–7.
59. Kim DK, Kim JW, Kim S, Gwon HC, Ryu JC, Huh JE, et al. Polymorphism of angiotensin converting enzyme gene is associated with circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17(11):3242–7.
60. Broderick J, Lu M, Jackson C, Pancioli A, Tilley BC, Fagan SC, et al. Apolipoprotein E phenotype and the efficacy of intravenous tissue plasminogen activator in acute ischemic stroke. *Ann Neurol.* 2001;49(6):736–44.
61. Del Río-Espínola A, Fernández-Cadenas I, Giralto D, Quiroga A, Gutiérrez-Agulló M, Quintana M, et al. A predictive clinical-genetic model of tissue plasminogen activator response in acute ischemic stroke. *Ann Neurol.* 2012;72(5):716–29.
62. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003;92(8):827–39.
63. Rosenberg GA, Estrada EY, Dencoff JE. Matrix metalloproteinases and TIMPs are associated with blood-brain barrier opening after reperfusion in rat brain. *Stroke.* 1998;29(10):2189–95.
64. Inzitari D, Giusti B, Nencini P, Gori AM, Nesi M, Palumbo V, et al. MMP9 variation after thrombolysis is associated with hemorrhagic transformation of lesion and death. *Stroke.* 2013;44(10):2901–3.
65. Castellanos M, Sobrino T, Millán M, García M, Arenillas J, Nombela F, et al. Serum cellular fibronectin and matrix metalloproteinase-9 as screening biomarkers for the prediction of parenchymal hematoma after thrombolytic therapy in acute ischemic stroke: A multicenter confirmatory study. *Stroke.* 2007;38(6):1855–9.
66. Montaner J, Molina CA, Monasterio J, Abilleira S, Arenillas JF, Ribó M, et al. Matrix metalloproteinase-9 pretreatment level predicts intracranial hemorrhagic complications after thrombolysis in human stroke. *Circulation.* 2003;107(4):598–603.
67. Zhang B, Ye S, Herrmann SM, Eriksson P, De Maat M, Evans A, et al. Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis. *Circulation.* 1999;99(14):1788–94.
68. Graham CA, Chan RW, Chan DY, Chan CP, Wong LK, Rainer TH. Matrix metalloproteinase 9 mRNA: An early prognostic marker for patients with acute stroke. *Clin Biochem.* 2012;45(4–5):352–5.

69. Manso H, Krug T, Sobral J, Albergaria I, Gaspar G, Ferro JM, et al. Variants of the Matrix Metalloproteinase-2 but not the Matrix Metalloproteinase-9 genes significantly influence functional outcome after stroke. *BMC Med Genet.* 2010;11:40.
70. Dusanovic Pjevic M, Jekic B, Beslac Bumbasirevic L, Vojvodic L, Damnjanovic 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.* 2021;41(7):562–71.
71. Montaner J, Fernández-Cadenas I, Molina CA, Monasterio J, Arenillas JF, Ribó M, et al. Safety profile of tissue plasminogen activator treatment among stroke patients carrying a common polymorphism (C-1562T) in the promoter region of the matrix metalloproteinase-9 gene. *Stroke.* 2003;34(12):2851–5.
72. Fernández-Cadenas I, Del Río-Espínola A, Carrera C, Domingues-Montanari S, Mendióroz M, Delgado P, et al. Role of the MMP9 gene in hemorrhagic transformations after tissue-type plasminogen activator treatment in stroke patients. *Stroke.* 2012;43(5):1398–400.
73. Mola-Caminal M, Carrera C, Soriano-Tárraga C, Giralt-Steinhauer E, Díaz-Navarro RM, Tur S, et al. PATJ Low Frequency Variants Are Associated with Worse Ischemic Stroke Functional Outcome: A Genome-Wide Meta-Analysis. *Circ Res.* 2019;124(1):114–20.
74. Carrera C, Cárcel-Márquez J, Cullell N, Torres-Águila N, Muiño E, Castillo J, et al. Single nucleotide variations in ZBTB46 are associated with post-thrombolytic parenchymal haematoma. *Brain.* 2021;144(8):2416–26.



“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