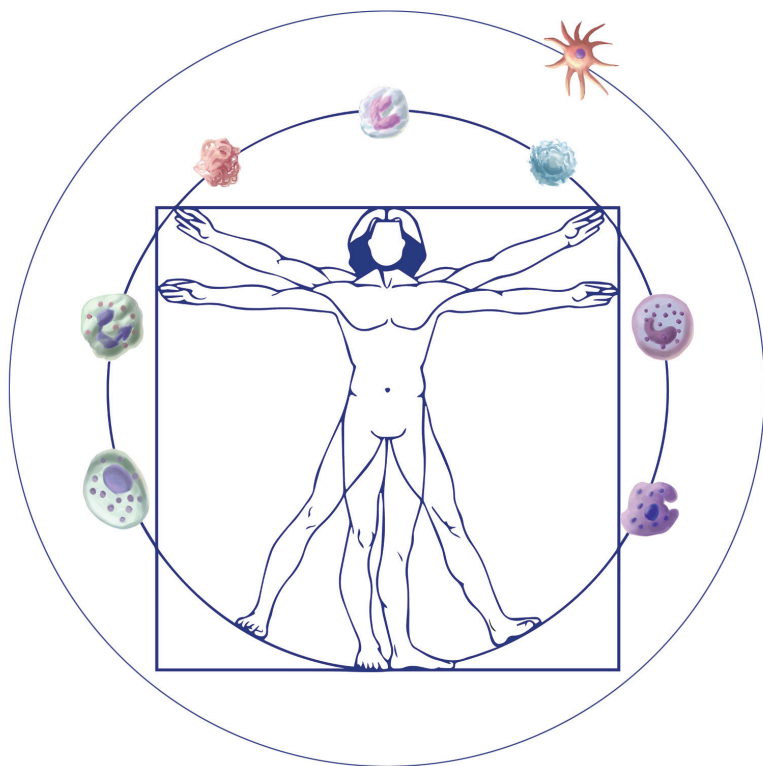


СРПСКА АКАДЕМИЈА НАУКА И УМЕТНОСТИ
Одељење медицинских наука САНУ
Одбор за имунологију и алергологију
и
Друштво имунолога Србије

Научни скуп
СВЕТСКИ ДАН ИМУНОЛОГИЈЕ 2022



28. април 2022. године
Свечана сала САНУ, Кнеза Михаила 35/II, Београд

ОРГАНИЗАЦИОНИ ОДБОР

Академик Миодраг Чолић,

председник Одбора за имунологију и алергологију ОМН САНУ

Академик Бела Балинт,

заменик председника Одбора за имунологију и алергологију
ОМН САНУ

Нада Пејновић,

Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“,
ИБИСС, Универзитет у Београду

Ђорђе Миљковић,

Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“,
ИБИСС, Универзитет у Београду

Вера Правица,

Медицински факултет Универзитета у Београду

Алиса Груден-Мовсесијан,

Институт за примену нуклеарне енергије, ИНЕП,
Универзитета у Београду

Немања Јовичић,

Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу

Предавања поводом Светског дана имунологије 2021.

9:00–9:20 Уводне речи САНУ и ДИС:
академик Владимир Костић,
академик Миодраг Чолић и Нада Пејновић

Председавајући:
Биљана Буфан, Александра Попов Александров

9:20–9:35 **Сергеј Томић**
ТЕРАПИЈСКА ПРИМЕНА МИЈЕЛОИДНИХ СУПРЕСОРСКИХ
ЋЕЛИЈА АКТИВИРАНИХ ПРОСТАГЛАНДИНОМ Е2
СПРЕЧАВА РАЗВОЈ ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОГ АУТОИМУНСКОГ
ЕНЦЕФАЛОМИЈЕЛИТИСА У МИША

9:35–9:50 **Тамара Саксида**
ЕТИЛ-ПИРУВАТ И АУТОИМУНСКЕ БОЛЕСТИ

9:50–10:05 **Душанка Поповић**
ПРОМЕНА МИКРОБИОТЕ ПЛУЋА И ЦРЕВА КАО
ПОСЛЕДИЦА ИНФЛАМАЦИЈЕ УЗРОКОВАНЕ ПЛУЋНОМ
АСПЕРГИЛОЗОМ

10:05–10:20 **Вељко Благојевић**
МОДУЛАЦИЈА ОДГОВОРА ЋЕЛИЈА ПЕРИТОНЕАЛНЕ
ШУПЉИНЕ ПАЦОВА АО И ДА СОЈА НА СТИМУЛАЦИЈУ
БАКТЕРИЈАМА ЦРЕВНЕ МИКРОБИОТЕ *IN VITRO*
ПРИМЕНОМ ПРОБИОТСКЕ БАКТЕРИЈЕ *Lactobacillus Rham-*
nosus IN VIVO

10:20–10:35 **Маја Косановић**
ТРЕЋИ КОРАК НА ПУТУ КА НОВИМ ИМУНОМОДУЛАТОР-
НИМ ТЕРАПИЈАМА ЗАСНОВАНИМ НА
ЕКСТРАЦЕЛУЛАРНИМ ВЕЗИКУЛАМА ИЗ *Trichinella spiralis*

10:35–11:00 Пауза

Председавајући:
Душан Попадић, Маријана Стојановић

- 11:00–11:15** **Снежана Живанчевић-Симоновић**
ЦИТОКИНСКИ ПРОФИЛ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА
ПНЕУМОНИЈОМ ИЗАЗВАНОМ ВИРУСОМ SARS-CoV-2
- 11:15–11:30** **Владимир Јуришић**
ВИТАМИН Д МЕЊА ЕФЕКТЕ ВЕЗИВАЊА СПАЈК ПРОТЕИНА
ВИРУСА SARS-CoV2 ЗА ЋЕЛИЈЕ ФИБРОБЛАСТА ПЛУЋА
- 11:30–11:45** **Татјана Симић**
ПОВЕЗАНОСТ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА
АНТИОКСИДАНТНЕ ЕНЗИМЕ СА РИЗИКОМ ЗА НАСТАНАК
И ТЕЖИНОМ COVID-19
- 11:45–12:45** **Скупштина ДИС**
- 12:45–13:45** Пауза

Председавајући:
Бранка Боначи Николић, Биљана Божић Недељковић

- 13:45–14:00** **Тања Џопалић**
ФУНКЦИЈА И ЕКСПРЕСИЈА IL-6 У ИМУНСКИМ ЋЕЛИЈАМА
ИЗОЛОВАНИХ ИЗ ХУМАНИХ ПЕРИАПЕКСНИХ ЛЕЗИЈА
- 14:00–14:15** **Емина Милошевић**
ИНХИБИЦИЈА СИГНАЛНОГ ПУТА АМР-АКТИВИРАНЕ
ПРОТЕИН КИНАЗЕ ЛЕУКОЦИТА ПОВЕЗАНА ЈЕ СА
ТЕЖИНОМ ГИЈЕН-БАРЕОВОГ СИНДРОМА НЕЗАВИСНО ОД
АУТОФАГИЈЕ
- 14:15–14:30** **Маја Стојановић**
АНАЛИЗА ХУМАНИХ ЛЕУКОЦИТНИХ АНТИГЕНА КЛАСЕ I И
КЛАСЕ II КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ТАКАУАСУ АРТЕРИТИСОМ:
ПОВЕЗАНОСТ ОДРЕЂЕНИХ АЛЕЛА СА КЛИНИЧКИМ
КАРАКТЕРИСТИКАМА И ПРОГНОЗОМ

14:30–14:45 **Драгана Јовановић**
ДИЈАГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ ТЕСТИРАЊА НИВОА
СПЕЦИФИЧНИХ IgE АНТИТЕЛА НА РЕКОМБИНАНТНЕ
АЛЕРГЕНЕ КОД ПАЦИЈЕНАТА АЛЕРГИЧНИХ НА НУМЕ-
НОРТЕРА ВЕНОМЕ: ПОРЕЂЕЊЕ ДВЕ МЕТОДЕ

14:45–15:00 Пауза

Председавајући:
Ивана Стојановић, Наташа Илић

15:00–15:15 **Марија Мандић**
АНТИ-ОКСИДАТИВНА И НЕУРОПРОТЕКТИВНА
АКТИВНОСТ ОДАБРАНИХ 2-ПИРИДОНА: *IN VITRO* И *IN*
SILICO СТУДИЈА

15:15–15:30 **Тања Лунић**
УТИЦАЈ СЕЗОНСКИХ ПРОМЕНА НА САСТАВ
СЕКУНДАРНИХ МЕТАБОЛИТА И НЕУРОПРОТЕКТИВНУ
АКТИВНОСТ ЕКСТРАКТА МАХОВИНЕ *HYPNUM CUPRESSI-*
FORME: IN VITRO И *IN SILICO* СТУДИЈА

15:30–15:45 **Марина Бекић**
ЦЕЛУЛОЗНИ НАНОКРИСТАЛИ МОДИФИКОВАНИ
ФОСФОНАТИМА СТИМУЛИШУ Th1 ПОЛАРИШУЋИ
КАПАЦИТЕТ ДЕНДРИТСКИХ ЋЕЛИЈА МОНОЦИТНОГ
ПОРЕКЛА ПРЕКО GABA-B РЕЦЕПТОРА

15:45 **Завршне речи**

ТЕРАПИЈСКА ПРИМЕНА МИЈЕЛОИДНИХ СУПРЕСОРСКИХ ЋЕЛИЈА АКТИВИРАНИХ ПРОСТАГЛАНДИНОМ E2 СПРЕЧАВА РАЗВОЈ ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОГ АУТОИМУНСКОГ ЕНЦЕФАЛОМИЈЕЛИТИСА У МИША

Марина Бекић¹, Наташа Илић¹, Јелена Ђокић², Душан Радојевић²,
Драгана Вучевић³, Саша Василев¹, Сергеј Томић¹

1 Институт за примену нуклеарне енергије, Универзитет у Београду

2 Институт за молекуларну генетику и генетско инжењерство,
Универзитет у Београду

3 Медицински факултет Војномедицинске академије, Универзитет
одбране, Београд

Мијелоидне супресорске ћелије (MDSC) представљају кључне регулаторне ћелије у хроничним запаљенским процесима. Међутим, нису довољно испитани имунолошки механизми деловања различитих подтипова MDSC, као ни њихов потенцијал у терапији аутоимунских обољења. У овом раду је показано да простагландин E2 (PGE2) активира супресивна својства гаранuloцитних (Gr)-MDSC и моноцитних (Mo)-MDSC пореклом из костне сржи C57BL/6 мишева. МоMDSC су испољавале више Аргиназе-1, IL-10, TGF- β и IL-4 у односу на GrMDSC, а PGE2 је додатно повећао експресију ових молекула на МоMDSC. Са друге стране, GrMDSC су испољавале више ILT3, CD44, CXCR1 и iNOS, који су били додатно потенцирани са PGE2. МоMDSC су снажније инхибирале пролиферацију Т ћелија индуковану са CD3/CD28 антителима, као и њихову диференцијацију у Th1, CTL и Th17 ћелије. PGE2 је потенцирао капацитет МоMDSC да индукују IL-10-продукујуће Трег, док су PGE2-третиране GrMDSC индуковале више TGF- β -продукујућих Трег. У моделу експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса (EAE) индукованог помоћу MOG35-55/CFA/PtX код C57BL/6 мишева, терапијска примена MDSC је значајно инхибирала почетак и клинички ток болести, али само након стимулације MDSC са PGE2. Смањење симптома EAE код групе третиране са PGE2-MDSC је био праћен смањењем инфилтрата у кичмену мождину, као и броја укупних и MOG-реактивних Т лимфоцита у лимфним чворовима. Вишедимензионална ненадгледана фенотипска анализа ћелијских популација слезине, Пејеровиох плоча, лимфним чворовима и CNS-а је показала да терапијска примена PGE2-MDSC повећава удео регулаторних популација лимфоцита у циљним органима. Ови резултати указују да MDSC добијене *in vitro* имају добар потенцијал у спречавању настанка и смањивању симптома хроничног EAE у миша, што може бити искоришћено за развој ефикасне ћелијске терапије за мултиплу склерозу.

Студија је финансирана од стране Фонда за науку Републике Србије, PROMIS, #6062673 Nano-MDSC-Thera.

ЕТИЛ-ПИРУВАТ И АУТОИМУНСКЕ БОЛЕСТИ

Драгица Гајић, Неда Ђедовић, Иван Копривица, Сања Деспотовић,
Бојан Јевтић, Сузана Станисављевић, Миљана Момчиловић,
Нада Пејновић, Ивана Стојанивић, Ђорђе Миљковић, Тамара Саксида

Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од
националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду

Примена етил-пирувата у третману аутоимунских болести је испитивана у анималним моделима дијабетеса типа 1, мултипле склерозе и миокардитиса. Показало се да етил-пируват ефикасно делује против аутоимунских процеса и следствено доводи до побољшања клиничке слике у овим моделима. Као главне мете деловања овог једињења идентификоване су дендритске ћелије и Т лимфоцити. Утврђено је да етил пируват потенцира толерогена својства дендритских ћелија, као и регулаторне Т лимфоците, а да инхибира ефекторске функције макрофага и ограничава активацију и функцију ефекторских Т лимфоцита. Инхибиторно дејство етил-пирувата на аутоимунске процесе је остварено захваљујући његовим редокс и метаболичким ефектима, а пре свега посредством његове интеракције са молекулом ХМГБ1. Имајући у виду да су претходна истраживања показала да је примена етил-пирувата у људи безбедна, будућа истраживања би морала бити усмерена ка транслатацији сазнања стечених у анималним моделима на терапијску примену овог једињења у аутоимунским болестима. (Финансирано од стране МПНТР РС, уговор број 451-03-68/2022-14/ 200007.)

ПРОМЕНА МИКРОБИОТЕ ПЛУЋА И ЦРЕВА КАО ПОСЛЕДИЦА ИНФЛАМАЦИЈЕ УЗРОКОВАНЕ ПЛУЋНОМ АСПЕРГИЛОЗОМ

Душанка Поповић, Ивана Мирков, Александра Попов Александров,
Дина Туцовић, Јелена Кулаш, Анастасија Малешевић, Светлана Соковић
Бајић, Маја Толиначки, Наташа Голић

1. Група за имунотоксикологију, Институт за биолошка истраживања “Синиша Станковић”, Институт од националног значаја Републике Србије, Универзитет у Београду, Србија
2. Лабораторија за интеракције пробиотика и микробиоте са домаћином, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, Србија

Иако дуго времена сматрана за стерилан орган, савременим дијагностичким методама показано је да су плућа таксономски веома разноврсна. Неколико фактора обликује бактеријску заједницу у овом органу, а то су имиграција, елиминација бактерија и локални услови раста. Досадашња истраживања су била усмерена на бактеријски састав у плућима током хроничних болести, али је мало података о утицају инфекције или инфламације на плућну бактеријску микробиоту. Користећи модел пулмонарне инфекције изазване гљивом *Aspergillus fumigatus* код имунокомпетентних јединки ДА пацова, испитали смо промене у микробиоти плућа током ове инфекције. Присуство гљиве у плућима довело је до инфламаторног одговора који се карактерише повећањем садржаја проинфламаторних цитокина IFN- γ и IL-17, као и повећањем активности ензима мијелопероксидазе (MPO). Инфламација која се запажа у плућима узроковала је пораст бактеријских врста у овом органу (алфа диверзитет), али је састав бактеријске заједнице (бета диверзитет) остао непромењен. Промене које су забележене у плућима током инфекције гљивом, праћене су променом хомеостазе у цревима. У колону је такође детектована инфламација (повећање садржаја проинфламаторних цитокина: IL-1 β , IL-6 и IL-17) и промена на нивоу бактеријске микробиоте (смањење броја врста и промена састава бактеријске заједнице). Добијени подаци дају увид у ефекте инфламације у плућима изазване гљивом *A. fumigatus* на бактеријску микробиоту у плућима (локали ефекти), али и на хомеостазу у цревима (дистални ефекат) што говори у прилог постојања комуникације између плућа и црева. (Финансирано од стране МПНТР РС, уговор број 451-03-68/2022-14/200007.)

МОДУЛАЦИЈА ОДГОВОРА ЋЕЛИЈА ПЕРИТОНЕАЛНЕ ШУПЉИНЕ ПАЦОВА АО И ДА СОЈА НА СТИМУЛАЦИЈУ БАКТЕРИЈАМА ЦРЕВНЕ МИКРОБИОТЕ *IN VITRO* ПРИМЕНОМ ПРОБИОТСКЕ БАКТЕРИЈЕ *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS IN VIVO*

Вељко Благојевић¹, Весна Вујић², Ивана Ћурувија¹,
Станислава Станојевић¹

1, Центар за имунолошка истраживања „Бранислав Јанковић“, Институт за
вирусологију, вакцине и серуме „Торлак“, Београд

2, Институт за хемију у медицини, Медицински факултет, Универзитет у
Београду, Београд

Имајући у виду да индивидуалне варијације у ефикасности орално примењеног пробиотика могу да буду последица разлика у колонизацији или метаболичким променама, директно модулаторно деловање бактерије *Lactobacillus rhamnosus* (ЛБ) на ћелије урођене имуности је испитивано интраперитонеалним убризгавањем (и.п.), $\approx 5 \times 10^7$ CFU пацовима Albino Oxford (АО) и Dark Agouti (ДА) соја, 2 и 7 дана пре изолације ћелија перитонеалне шупљине и *in vitro* третмана бактеријама цревне микробиоте. Иако је и.п. убризгавање ЛБ након 2 дана довело до пораста броја ћелија перитонеалне шупљине, пораста процентуалне заступљености малих инфламаторних CD163⁺MHCII^{lo} макрофага и SSC^{lo}HIS48⁺CD43⁺ моноцита и смањења процента зрих CD163⁺MHCII^{hi} макрофага код пацова оба соја, пораст процентуалне заступљености CD163⁺MHCII^{hi} макрофага/ дендритских ћелија је био примећен само код пацова ДА соја. Упркос релативном опоравку у промени састава ћелија перитонеалне шупљине пацова оба соја седмог дана након убризгавања ЛБ, значајно мања укупна заступљеност CD163⁺ а значајно већа активираних CCR7⁺ ћелија код пацова ДА соја указује на интензивнију активацију са ЛБ код пацова ДА соја. Повећање капацитета продукције водоник пероксида индуковане бактеријама цревне микробиоте *in vitro* превенирано је у ћелијама пацова оба соја 2 дана, а код пацова АО соја и 7 дана након и.п. ЛБ третмана, док је, напротив, повећање капацитета продукције азот монооксида индуковано бактеријама цревне микробиоте потенцирано у ћелијама пацова ДА соја 2 дана након и.п. ЛБ. Наши резултати указују на то да је имуномодулаторно деловање ЛБ, односно могућност модулације одговора ћелија имунског система на коменсале или патогене, обликовано генетски детерминисаним обрасцима активације ћелија домаћина (Под покровитељством МПНТР РС, Уговор 451-03-9/2021-14/200177).

ТРЕЋИ КОРАК НА ПУТУ КА НОВИМ ИМУНОМОДУЛАТОРНИМ ТЕРАПИЈАМА ЗАСНОВАНИМ НА ЕКСТРАЦЕЛУЛАРНИМ ВЕЗИКУЛАМА ИЗ *TRICHINELLA SPIRALIS*

Софија Гламочлија, Наташа Илић, Алиса Груден-Мовсесијан, Сергеј
Томић, Љиљана Софронић-Милосављевић, Маја Косановић

Институт за примену нуклеарне енергије, ИНЕП, Универзитет у
Београду

Један од праваца у потрази за новим приступима лечењу болести које имају у својој основи поремећај у регулацији имунског система је анализа природних производа са имуномодулаторним својствима. Паразитски црви, као што је *Trichinella spiralis*, модулишу имунски одговор домаћина посредством екскреторно-секреторних производа (ЕС Л1). Наша претходна истраживања, усмерена на идентификацију имуномодулаторних компоненти ЕС Л1 довела су до открића екстрацелуларних везикула (ЕВ) *Trichinella spiralis* (ТсЕВ). Како се иницијално показало да ТсЕВ могу да утичу на фенотип периферних моноклеарних ћелија, циљ овог истраживања је био испитивање њихових имуномодулаторних својства у култури дендритских ћелија.

ТсЕВ су изоловане из ЕС Л1 производа мишићних ларви *T. spiralis* диференцијалним центрифугирањем и њима су третиране дендритске ћелије (Дћ), које су затим ко-култивисане са алогеним Т ћелијама (Тћ). Фенотип је анализиран проточном цитометријом.

Дћ третиране са ТсЕВ имале су значајно повећану експресију ILT-3 и CCR-7 и благо повећану експресију CD-83, док експресија HLA-DR, CD-40, CD-86 није била промењена. Ове Дћ су продуковале више IL-10 и TGF- β , што заједно са нивоом експресије површинских маркера указује на толерогени фенотип Дћ. Третиране Дћ су индуковале повећану продукцију IL-4 и IL-10 од стране ко-култивисаних Тћ и повећан проценат CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ регулаторних Тћ, што указује на поларизацију имунског одговора у правцу Th2 и регулаторног типа.

Добијени резултати сугеришу да ТсЕВ имају потенцијал да индукују толерогене Дћ и поларизују Т-ћелијски одговор у регулаторном правцу. Овако фаворизовање анти-инфламаторног одговора би се могло искористити у терапији инфламаторних болести, а следећи корак у развоју иновативних терапија заснованих на ТсЕВ је потврђивање њиховог дејства на моделима ових болести код животиња.

ЦИТОКИНСКИ ПРОФИЛ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ПНЕУМОНИЈОМ ИЗАЗВАНОМ ВИРУСОМ SARS-COV-2

Снежана Живанчевић-Симоновић¹, Олгица Михаљевић¹,
Данијела Ђ. Јовановић^{1,2}, Војислав Ђупурдија^{1,2}, Маријана Станојевић-
Пирковић^{1,2}, Иван Станојевић³, Данило Војводић³, Рајна Минић⁴,
Данијела Б. Јовановић^{1,2}, Оливера Милошевић-Ђорђевић¹

1 Универзитет у Крагујевцу, Факултет Медицинских наука, Крагујевац

2 Универзитетски клинички центар Крагујевац, Крагујевац

3 Институт за медицинска истраживања, Војномедицинска академија,
Београд

4 Институт за медицинска истраживања, Универзитет у Београду, Београд

Код пацијената са пнеумонијом изазваном SARS-CoV-2 вирусом активирају се ћелије урођене и стечене имуности које продукују бројне, углавном проинфламаторне цитокине. Циљ овог рада био је да се анализира концентрација одабраних цитокина у серумима пацијената са пнеумонијом у склопу корона вирусне болести (COVID-19) и супернатантима добијеним након неспецифичне стимулације ћелија пуне крви у условима *in vitro*. Утицај пола, година живота, гликокортикоидне терапије и тренда инфламаторног процеса у време узорковања такође је испитиван. Концентрације одабраних Th1/Th2/Th9/Th17/Th22 цитокина мерене су коришћењем комерцијалног кита (LEGENDplex™, Human Th Cytokine Panel (13-plex), BioLegend, San Diego, USA) на проточном цитофлуориметру према упутствима произвођача, а концентрација трансформишућег фактора раста бета 1 (TGF-β1) одређена је ELISA тестом. Концентрације цитокина код пацијената са COVID-19 упоређиване су са вредностима измереним код контролне групе здравих испитаника. Поред великих индивидуалних варијација, како код COVID-19 пацијената, тако и код здравих контрола, наши резултати указују на значајно редуковану продукцију готово свих испитиваних цитокина након неспецифичне стимулације ћелија пуне крви COVID-19 пацијената у *in vitro* условима. Показано је да на концентрације појединих проинфламаторних цитокина утиче тренд инфламације у време узорковања (који је процењиван на основу броја лимфоцита, Ц-реактивног протеина (CRP) и интерлеукина 6 (IL-6) током хоспитализације), као и примењена гликокортикоидна терапија, док је концентрација анти-инфламаторног цитокина TGF-β1 повезана са бројем тромбоцита. У закључку можемо рећи да на концентрације проинфламаторних цитокина измерене након неспецифичне *in vitro* стимулације утиче тренд инфламаторног процеса и примењена гликокортикоидна терапија, док ниво анти-инфламаторног TGF-β1 зависи од броја тромбоцита.

Кључне речи: цитокини, COVID-19, инфламација, гликокортикоидна терапија

ВИТАМИН Д МЕЊА ЕФЕКТЕ ВЕЗИВАЊА СПАЈК ПРОТЕИНА ВИРУСА SARS-COV2 ЗА ЋЕЛИЈЕ ФИБРОБЛАСТА ПЛУЋА

Владимир Јуришић¹, Јован Луковић¹, Марина Ђокић-Лишанин²,
Марија Стојадиновић³, Тања Ђирковић-Величковић^{3,4}

1 Универзитет у Крагујевцу, Факултет медицинских наука,

2 Универзитетски клинички центар Крагујевац, Универзитет у Београду,

3 Хемијски факултет, Центар изузетних вредности за молекуларне науке о
исхрани,

4 САНУ, Београд, Србија

У овом раду испитивана је *in-vitro* улога витамина Д на ћелијску пролиферацију и токсичност МРЦ-5 ћелија, индуковану присуством S1 (спајк) и N (нуклеокапсид) протеина SARS-Cov2 вируса. S1 и N протеин, произведени техникама молекуларне биологије на Факултету за Хемију Универзитета у Београду, коришћени су за стимулацију ћелија МРЦ-5, током 24 и 48 часовне ћелијске културе. S1 протеин је коришћен у концентрацији од $6,0 \times 10^{-2}$ ng/ μ l до $7,5 \times 10^{-4}$ ng/ μ l, а протеин од $12,00 \times 10^{-2}$ ng/ μ l до $15,00 \times 10^{-4}$ ng/ μ l. Ћелије су анализирани морфолошки као и на основу МТТ теста. У супернатанту су одређивани цитокин IL-6, ензими LDH и AST као и калијум за анализу степена оштећења ћелијске мембране. Резултати су показали значајно различите ефекте S1 протеина у односу на концентрације као и у односу на N протеин. Ефекти S1 протеина показали су статистички значајно повећање ослобађања интраћелијског ензима LDH, AST и интраћелијског калијума, у зависности од концентрације и времена инкубације (ANOVA, $p < 0,05$), док IL-6 у испитиваним условима није детектован. Витамин Д (Vigantol[®]) (20 000 IU/ml) доводио је значајно до смањења ослобађања AST и калијума после третмана индукованог S1 протеином, док је на ефекте изазване N протеином био мање изражен. Ови прелиминарни резултати указали су како S1 протеин највероватније због своје специфичне структуре у односу на N протеин, после везивања за одговарајуће АЦЕ рецепторе и без присуства целе вирусне партикуле, може да доведе до промена на циљним ћелијама те да индукује њихову некрозу у зависности од концентрације. Изгледа да витамин Д бар делимично смањује директно везивање S1 протеина за циљне ћелије и поништава његове ефекте.

ПОВЕЗАНОСТ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА АНТИОКСИДАНТНЕ ЕНЗИМЕ СА РИЗИКОМ ЗА НАСТАНАК И ТЕЖИНОМ COVID-19

Татјана Симић^{1,2}, Ана Савић Радојевић¹, Марија Пљеша Ерцеговац¹,
Марија Матић¹, Татјана Ђукић¹, Весна Ћорић¹, Ђурђа Јовановић¹, Зоран
Букумирић³, Горан Стевановић⁴, Ивана Милошевић⁴, Јован Ранин⁴,
Милика Ашанин⁵, Марко Ерцеговац⁵.

1 Институт за медицинску и клиничку биохемију МФУБ,

2 Српска академија наука и уметности,

3 Институт за медицинску статистику МФУБ,

4 Клиника за инфективне и тропске болести УКЦС,

5 Ургентни центар УКЦС

Овај рад је имао за циљ да утврди дистрибуцију полиморфизама гена за антиоксидантне ензиме, глутатион трансферазе (GSTA1, GSTM1, GSTM3, GSTP1 и GSTT1), супероксид дизмутаза 2 (SOD2) и глутатион пероксидазе (GPX1 и GPX3) код болесника са COVID-19 и одговарајућих контрола, као и њихова корелацију са биохемијским лабораторијским показатељима. Полиморфизми гена за антиоксидантне ензиме су одређивани помоћу одговарајућих PCR метода код 229 болесника оболелих од COVID-19 и 229 упарених здравих особа. Наши резултати су показали да хомозиготни носиоци варијантног *GSTM3-CC* генотипа имају већи ризик за појаву COVID-19 ($p=0.024$). Међутим, носиоци варијантног *GSTP1-Val* алела имали су нижи ризик за појаву симптоматског COVID-19 ($p=0.002$). Интересантно је да полиморфизми гена за SOD2 и GPX1 нису утицали на ризик за појаву COVID-19, али су били повезани са биохемијским показатељима у плазми ових болесника. Присуство варијантног алела *SOD2*Val* је било повезано са вишим нивоима фибриногена ($p=0.04$) и феритина ($p=0.033$), док је присуство варијантног *GPX1*Leu* алела било повезано са вишим нивоом D-димера ($p=0.009$). Из приказаних резултата се може закључити да глутатион трансферазе највероватније на појаву COVID-19 утичу својим некаталитичким улогама у регулацији преноса сигнала и протеин протеинским интеракцијама. Налази који се односе на повезаност полиморфизама гена за SOD2 и GPX1 са вишим нивоима показатеља инфламације и коагулације могу имати значај у персонализованом приступу пацијентима који имају склоност ка настанку тромбозе и евентуалној примени антиоксидантне терапије.

ФУНКЦИЈА И ЕКСПРЕСИЈА IL-6 У ИМУНСКИМ ЋЕЛИЈАМА ИЗОЛОВАНИХ ИЗ ХУМАНИХ ПЕРИАПЕКСНИХ ЛЕЗИЈА

Тања Цопалић^{1,2}, Сергеј Томић³, Марина Бекић³, Драгана Вучевић², Душан Михајловић^{2,4}, Миле Ераковић⁵, Миодраг Чолић^{2,4}

1 Универзитет у Нишу, Медицински факултет, Ниш

2 Универзитет одбране у Београду, Медицински факултет
Војномедицинске академије, Београд

3 Универзитет у Београду, Институт за примену нуклеарне енергије,
Београд

4 Универзитет Источно Сарајево, Медицински факултет у Фочи, Фоча,
Република Српска, Босна и Херцеговина

5 Војномедицинска академија, Клиника за стоматологију, Београд

Циљ ове студије је био испитивање *ex vivo* продукције IL-6 од стране субпопулација имунских ћелија изолованих из периапексних лезија (PL), повезаност продукције IL-6 са клиничким својствима PL и модулаторни ефекат IL-6 на цитокине Т ћелија.

Инфламаторне ћелије су изоловане из 95 хуманих PL. Концентрација цитокина у супернатантима ћелијских култура је одређивана ELISA и *FlowCytomix Microbeads* есејом. Експресија IL-6 у субпопулацијама имунских ћелија је детектована методом мултиколорне проточне цитофлуориметрије. Мононуклеарне ћелије (MNC), изоловане из симптоматских (Sy) и асимптоматских (Asy) PL, су третиране IL-6 и *Tocilizumabom*, IL-6R блокирајућим антителом.

Концентрација IL-6 у ћелијским културама из MNC (посебно из Sy PL) је била већа у поређењу са културама укупних ћелија или гранулоцита. Показано је да су NKT ћелије, CD8⁺T ћелије и M2 макрофаги доминантне IL-6⁺ ћелије, али због своје бројности CD8⁺ и CD4⁺T ћелије највише доприносе укупној продукцији IL-6. Концентрација IFN-γ, IL-17A, IL-21 и RANKL била је много већа у IL-6^{hi} (Sy PL) него у IL-6^{low} (AsyPL) MNC културама, док је продукција IL-4, IL-10 и TGF-β била знатно нижа. Третман култура са егзогеним IL-6 је повећао продукцију IL-17A, IL-21 и RANKL, независно од клиничког статуса PL, али је смањио концентрацију IFN-γ, IL-4 и IL-33 у IL-6^{hi} MNC културама. Третман *Tocilizumabom* је повећао продукцију IL-10 и TGF-β у IL-6^{low} MNC културама. У закључку се може истаћи да IL-6 има предоминантан проинфламацијски и остеодеструктивни ефекат у PL судећи по активацији Th17/Tfh ћелија, инхибицији Treg цитокина и повећаном односу RANKL/OPG. Међутим, када је његова продукција прекомерна долази до инхибиције Th1/Th2 одговора.

ИНХИБИЦИЈА СИГНАЛНОГ ПУТА АМР-АКТИВИРАНЕ ПРОТЕИН КИНАЗЕ ЛЕУКОЦИТА ПОВЕЗАНА ЈЕ СА ТЕЖИНОМ ГИЈЕН-БАРЕОВОГ СИНДРОМА НЕЗАВИСНО ОД АУТОФАГИЈЕ

Емина Милошевић¹, Верица Пауновић¹, Стојан Перић², Ирена Вуковић¹,
Марина Стаменковић¹, Данијела Стевановић¹, Милош Мандић¹,
Ивана Баста², Ивана Берисавац², Мирјана Арсенијевић², Иво Божовић²,
Зорица Стевић², Владимир Трајковић¹

1 Универзитет у Београду, Медицински факултет, Институт за
микробиологију и имунологију, Др Суботица 1, 11000 Београд, Србија

2 Универзитет у Београду, Медицински факултет, Универзитетски
клинички центар Србије, Клиника за неурологију, Др Суботица 1, 11000
Београд, Србија

Интрацелуларни енергетски сензор АМР-активирана протеин киназа (АМРК) регулише ћелијски метаболизам и функцију углавном супресијом комплекса 1 механицистичке мете рапамицина (mTORC1) и након повећањем аутофагне деградације ћелијских компоненти. Статус АМРК/mTORC1 пута и аутофагије анализиран је у моноклеарним ћелијама периферне крви (ПБМЦ) 20 здравих контролних субјеката и 23 пацијента са акутним демијелинизујућим подтипом Гијен-Бареовог синдрома (ГБС), имунолошки посредованом периферном полинеуропатијом. Активација јетрене киназе B1 (LKB1)/ АМРК/RAPTOR сигналне осе, процењена имуноблотом, била је значајно смањена код ГБС у поређењу са контролним особама. С друге стране, фосфорилација mTORC1 активатора АКТ и mTORC1 супстрата 4EBP1, као и нивои протеина маркера аутофагије LC3, ATG5, beclin-1 и p62 нису били погођени у ПБМЦ оболелих упркос незнатном смањењу транскрипције гена аутофагије. Супресија АМРК сигналног пута у ПБМЦ оболелих од ГБС била је повезана са повећаном фосфорилацијом киназе регулисане екстрацелуларним сигнаlima (ERK) и протеин киназе C (PKC) супстрата гликоген синтазе киназе-3β, док је активација p38 протеин киназе активираних митогеном (МАРК) није била измењена. Штавише, *in vitro* експерименти на ћелијској линији HL-60 показали су да је активација PKC усходни сигнал који доприноси и инхибицији АМРК и стимулацији ERK. Смањење регулације LKB1/АМРК сигнализације, али не и статус активације аутофагије, mTORC1, АКТ, ERK, PKC или p38 МАРК, у корелацији је са укупним инвалидитетом и/или слабошћу мишића код пацијената са ГБС, као и са лошим исходом ГБС. Коначно, ретроспективна студија у кохорти дијабетичара са ГБС показала је да је лечење АМРК активатором метформином повезано са блажим ГБС у поређењу са терапијом инсулином/сулфонилуреом. Заједно, ови подаци указују на то да поремећај LKB1/АМРК пута може допринети развоју и/или прогресији ГБС независно од аутофагије и mTORC1, представљајући потенцијалну терапијску мету у овој аутоимунској болести.

Студија је подржана неограничавајућим грантом Кедрона Биофарме (Castelvecchio Pascoli, Италија), Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Уговор бр. 451-03-9/2021-14/200110) и српског Друштва за периферни нервни систем.

АНАЛИЗА ХУМАНИХ ЛЕУКОЦИТНИХ АНТИГЕНА КЛАСЕ I И КЛАСЕ II КОД ПАЦИЈЕНАТА СА *TAKAYASU* АРТЕРИТИСОМ: ПОВЕЗАНОСТ ОДРЕЂЕНИХ АЛЕЛА СА КЛИНИЧКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА И ПРОГНОЗОМ

Маја Стојановић^{1,2}, Зорана Андрић³, Душан Попадић⁴,
Марија Станковић Станојевић⁵, Рада Мишковић^{1,2}, Драгана Јовановић^{1,2},
Александра Перић-Попадић^{1,2}, Јасна Болпачић^{1,2}, Весна Томић-Спирић^{1,2},
Санвила Рашковић^{1,2}

- 1 Клиника за алергологију и имунологију Универзитетског клиничког центра Србије
- 2 Универзитет у Београду – Медицински факултет
- 3 Институт за трансфузију крви Србије, Одељење за типизацију ткива
- 4 Универзитет у Београду – Медицински факултет, Институт за микробиологију и имунологију
- 5 Универзитет у Београду – Медицински факултет, Институт за патофизиологију

Увод: *Takayasu* артеритис (ТА) је системски васкулитис непознате етиологије који се карактерише грануломатозним запаљењем зида аорте и њених грана. Одређени генетски фактори могу имати значаја у настанку ТА.

Циљ: Анализа хуманих леукоцитних антигена (HLA) класе I и класе II, испитивање њихове повезаности са демографским и клиничким параметрима и анализа могућег прогностичког значаја.

Материјал и методе: Истраживањем је обухваћено 25 пацијената са ТА. Након изолације дезоксирибонуклеинске киселине из периферне крви, узорци су типизирани за HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 и HLA-DQB1 локусе, коришћењем олигонуклеотидних проба које су специфичне за секвенцу. За поређење HLA-A, HLA-B, и HLA-DRB1 алелских група је коришћена контролна група коју је чинило 1992, а за алелске групе HLA-C и HLA-DQB1 контролну групу чинило је 159 здравих, несродних испитаника.

Резултати: Учесталост HLA-B*52, HLA-A*32, HLA-B*15, HLA-B*57 и HLA-C*03, и хаплотипа DRB1*15:02-DQB1*05 је била статистички значајно већа код ТА пацијената у односу на здраве контроле; за алел HLA-B*52 се одржала висока статистичка значајност и након корекције p вредности по Бењамини Хохберг методу. Фреквенција алела HLA-B*52 износила је 10% (5/50) код пацијената са ТА, и 1.2% код контрола (46/3984) ($p=0.0004$, $p^{\text{adj}}=0.011$). Утврђена је значајна повезаност присуства HLA-B*52 са ранијим почетком болести, тежом клиничком формом болести и лошијим одговором на примењену имуномодулаторну терапију. Алел HLA-C*03, детектован је код 32% пацијената, искључиво код оних који су испољили лакши клинички облик ТА.

Закључак: Идентификација HLA профила код пацијената са ТА може имати прогностички значај. HLA-B*52 се доводи у везу са већом склоношћу ка оболевању од ТА, док HLA-C*03 може имати протективни значај.

ДИЈАГНОСТИЧКИ ЗНАЧАЈ ТЕСТИРАЊА НИВОА СПЕЦИФИЧНИХ IgE АНТИТЕЛА НА РЕКОМБИНАНТНЕ АЛЕРГЕНЕ КОД ПАЦИЈЕНАТА АЛЕРГИЧНИХ НА *HYMENOPTERA* ВЕНОМЕ: ПОРЕЂЕЊЕ ДВЕ МЕТОДЕ

Драгана Јовановић^{1,2}, Александра Перић-Попадић^{А^{1,2}},
Слађана Андрејевић^{1,2}, Маја Стојановић^{1,2}, Бранка Боначи-Николић^{1,2}

1 Клиника за Алергологију и Имунологију, Универзитетски Клинички
Центар Србије, Београд, Србија

2 Медицински Факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија

УВОД: Пацијенти са системском алергијском реакцијом (САР) на убој *Hymenoptera* инсекта често показују вишеструку позитивност специфичних ИгЕ (сИгЕ) антитела у серуму на веноме инсеката. Непотребна дуготрајна специфична имунотерапија на веном (ВИТ) инсекта код лажно позитивних пацијената повећава ризик од поновне САР. Циљ рада је анализирање дијагностичког значаја сИгЕ антитела на рекомбинантне алергене код пацијената са САР на *Hymenoptera* веноме.

МЕТОД: Код 82 пацијената мерени су нивои сИгЕ на екстракте венома пчеле (ПВ), венома осе (ОВ), венома стршљена (СВ), рекомбинантну фосфолипазу А2 пчеле (*rApi m1*), рекомбинантни антиген 5 осе (*rVes v5*) и унакрсно-реактивне угљенохидратне детерминанте (УХД) ImmunoСАР методом. Анализирана је корелација метода ImmunoСАР и Immunoblot за екстракте ПВ и ОВ, *rApi m1* и *rVes v5* код 39/82 пацијената. Према историји убоја инсекта, упоређивали смо сензитивност и специфичност између две методе.

РЕЗУЛТАТИ: Јачина САР није зависила од нивоа сИгЕ антитела на екстракте венома и рекомбинантне алергене. Вишеструку ИгЕ-позитивност на ПВ/ОВ или ПВ/ОВ/СВ екстракте имало је 51% пацијената. Тешка САР и УХД-сИгЕ су били чешћи код вишеструко ИгЕ-позитивних него код једноструко ИгЕ-позитивних пацијената ($p<0.0001$). Серумски УХД-сИгЕ су били чешћи код пацијената алергичних на ПВ него код пацијената алергичних на ОВ ($p<0.0001$) и СВ ($p=0.049$). Постојала је значајна корелација између нивоа сИгЕ на екстракте венома ($p<0.0001$) и рекомбинантне алергене ($p<0.05$) мерених ImmunoСАР-ом и Immunoblot-ом. ImmunoСАР је имала већу сензитивност и специфичност од Immunoblot методе за дијагнозу САР на *Hymenoptera* веноме.

ЗАКЉУЧАК: ИгЕ-тестирање на рекомбинантне УХД-ослобођене алергене је неопходно за адекватну селекцију пацијената за дуготрајну ВИТ, посебно код пацијената са вишеструком ИгЕ-позитивношћу на екстракте венома.

АНТИ-ОКСИДАТИВНА И НЕУРОПРОТЕКТИВНА АКТИВНОСТ ОДАБРАНИХ 2-ПИРИДОНА: *IN VITRO* И *IN SILICO* СТУДИЈА

Марија Мандић¹, Тања Лунић¹, Јелена Лађаревић², Вања Верушевски²,
Душан Мијин², Бојан Божић¹, Биљана Божић Недељковић¹

1 Институт за физиологију и биохемију „Иван Ђаја“, Биолошки факултет,
Универзитет у Београду, 11000 Београд, Србија

2 Технолошко-металуршки факултет, Универзитет у Београду, 11000
Београд, Србија

Различито супституисани деривати 2-пиридона чине посебну класу хетероцикличних једињења за које је претходно показано да поседују различита биолошка својства: анти-микробна, анти-инфламаторна, анти-оксидативна, као и анти-туморска. У представљеној студији, серија од двадесет четири деривата 2-пиридона испитина је употребом ABTS теста како би се одабрали деривати са највећом анти-оксидативном активношћу за даљу *in vitro* и *in silico* анализу. Анти-оксидативна активност седам одабраних пиридона испитина је даље методом избељивања β -каротена, где су селектована једињења показала већи анти-оксидативни потенцијал у поређењу са стандардом – витамином Це. Такође, селектовани 2-пиридони показали су анти-неуроинфламаторну активност смањењем продукције проинфламаторних медијатора (ROS, NO, IL-6 и TNF- α) од стране LPS-ом стимулираних BV2 ћелија. Поред тога, показано да третман 2-пиридонима LPS-ом стимулираних BV2 ћелија елиминише и неуротоксичност тих ћелија (модел систем преноса супернатанта BV2 ћелија на SH-SY5Y неуроне). *In silico* анализом испитани су анти-неуроинфламаторни механизми одабраних 2-пиридона применом молекулског докинга на протеине TLR4 сигналног пута, као и индуцибилну азот оксид синтазу.

Добијени резултати указују на значајан анти-неуроинфламаторни потенцијал одабраних 2-пиридона, што их чини одличним кандидатима за даља истраживања у циљу проналаaska нових потенцијалних терапеутика за лечење неуродегенеративних болести.

УТИЦАЈ СЕЗОНСКИХ ПРОМЕНА НА САСТАВ СЕКУНДАРНИХ МЕТАБОЛИТА И НЕУРОПРОТЕКТИВНУ АКТИВНОСТ ЕКСТРАКАТА МАХОВИНЕ *HYPRNUM CUPRESSIFORME*: *IN VITRO* И *IN SILICO* СТУДИЈА

Тања Лунић¹, Марија Мандић¹, Мариана Оалђе Павловић²,
Анета Сабовљевић², Марко Сабовљевић², Бојан Божић¹,
Биљана Божић Недељковић¹

1 Институт за физиологију и биохемију „Иван Таја“, Биолошки факултет,
Универзитет у Београду, 11000 Београд, Србија

2 Институт за ботанику и ботаничка башта „Јевремовац“, Биолошки
факултет, Универзитет у Београду, 11000 Београд, Србија

Бројни представници маховина, укључујући *Hyprnum cupressiforme*, од давнина се користе за ублажавање различитих патолошких стања повезаних са инфламацијом. Међутим, механизам њиховог анти-инфламаторног потенцијала је недовољно истражен. Поред тога, утицај сезонских промена на хемијски састав и биолошку активност маховина, иако је од великог значаја, генерално се занемарује. Стога, ова студија је имала за циљ да испита утицај сезонских промена (пролеће, лето и јесен) на састав секундарних метаболита и биолошку активност стил-ацетатних екстраката маховине *H. cupressiforme*. Антиоксидативна активност је одређена уз помоћ теста инхибиције обезбојавања β -каротена, док су MTT, NBT, ELISA и Griess тестови коришћени да би се испитао антинеуроинфламаторни и неуропротективни потенцијал екстраката. Такође, инхибиција ацетилхолинестеразе и тирозиназе, ензима повезаних са великим бројем неуродегенеративних поремећаја, испитивана је експериментално као и уз помоћ молекуларне докинг анализе. Највећи садржај секундарних метаболита као и најбоља антиоксидативна активност показао је екстракт летњег аспекта испитиване маховине. Екстракти су инхибирали ослобађање ROS-а, NO-а, и проинфламаторних цитокина, TNF- α и IL-6, од стране водоник перксидом и LPS-ом активираних микроглијских ћелија. Значајан инхибиторни потенцијал према ацетилхолинестерази и тирозинази у поређењу са стандардним инхибиторима је детектован у *in vitro* условима, док су резултати докинг анализе показали високо-афинитетне интеракције остварене између секундарних метаболита идентификованих у екстрактима *H. cupressiforme* и аминокиселинских остатака у активним центрима испитиваних ензима. Резултати ове студије указују на антинеуроинфламаторни и неуропротективни потенцијал испитиваних екстраката, као и значајне сезонске флукуације у садржају секундарних метаболита, што је за резултат имало и разлике у биолошкој активности екстраката маховине *H. cupressiforme* из различитих сезона.

ЦЕЛУЛОЗНИ НАНОКРИСТАЛИ МОДИФИКОВАНИ ФОСФОНАТИМА СТИМУЛИШУ ТН1 ПОЛАРИШУЋИ КАПАЦИТЕТ ДЕНДРИТСКИХ ЋЕЛИЈА МОНОЦИТНОГ ПОРЕКЛА ПРЕКО GABA-B РЕЦЕПТОРА

Марина Бекић¹, Милош Васиљевић², Душица Стојановић³, Вања Кокот⁴, Душан Михајловић², Драгана Вучевић², Миодраг Чолић^{1,2,5}, Сергеј Томић¹

- 1 Институт за примену нуклеарне енергије, ИНЕП, Универзитет у Београду, Београд, Србија
- 2 Медицински факултет у Фочи, Универзитет Источно Сарајево, Фоча, Босна и Херцеговина
- 3 Технолошко-металуршки факултет, Универзитет у Београду, Београд, Србија
- 4 Факултет за машинско инжењерство, Марибор, Словенија
- 5 Српска академија наука и уметности, Београд, Србија

Фосфонати, међу којима је и 3-аминопропилфосфораста киселина (ApA), показују велики потенцијал за терапију остеодеструктивних болести и метастатских тумора костију. Достава фосфоната путем целулозних нанокристала (CNC) би могла побољшати њихову ефикасност, и притом смањити системске нежељене ефекте. Међутим, имуномодулацијска својства CNC нису до сада детаљно испитана. У раду су испитивани ефекти немодификованих CNC (nCNC), оксидованих CNC (oxCNC) и ApA-коњугованих CNC (ApACNC), користећи *in vitro* модел хуманих дендритских ћелија моноцитног порекла (MoDC). Нетоксичне дозе nCNC су испољиле толерогени потенцијал на MoDC, што је било праћено повећањем експресије PDL1, IL-33, IDO-1 и ILT-3, као и повећањем капацитета MoDC да индукују регулаторне Т ћелије. Насупрот томе, oxCNC и ApACNC су повећавале аутофагију и акумулацију реактивних врста кисеоника (ROS), а следствено и сазревање MoDC повећавањем експресије CD83, CD86, IL-12, NLRP3 и IL-1β. MoDC третиране са ApACNC су поседовале најизраженији алостимулацијски и Th1/CTL поларишући капацитет, а ови ефекти су били слични ефектима солубилне ApA у 5 пута већој концентрацији од ApA везане за CNC, што указује на то да CNC додатно потенцирају стимулацијске ефекте ApA. Стимулацијски ефекти солубилне ApA и ApACNC на сазревање су били посредовани активацијом GABA-B рецептора на MoDC и следственим смањењем нивоа cAMP, а целокупни ефекат је био инхибиран применом специфичног GABA-B инхибитора. Осим тога, ефекат ApACNC на Th1-поларишући и алостимулацијски потенцијал MoDC је био условљен динамиком експресије R2 субјединице GABA-B-R током диференцијације MoDC. Ови резултати истичу да би достава фосфоната помоћу CNC била добар нови приступ за индукцију пожељних имунолошких ефеката посредованих са DC у лечењу малигних обољења костију.

