



Српско друштво за имунологију,  
молекулску онкологију и регенеративну медицину  
Академија наука и умјетности Републике Српске  
Академија медицинских наука Српског лекарског друштва  
Медицински факултет у Фочи Универзитета у Источном Сарајеву  
Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија  
Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

**ДРУГИ  
СРПСКИ  
КОНГРЕС  
МОЛЕКУЛСКЕ  
МЕДИЦИНЕ  
THE SECOND  
SERBIAN  
MOLECULAR  
MEDICINE  
CONGRESS  
КЊИГА  
САЖЕТАКА  
ABSTRACT  
BOOK**

Фоча, 2023  
Foca, 2023

Српско друштво за имунологију, молекулску онкологију и регенеративну медицину  
Академија наука и умјетности Републике Српске  
Академија медицинских наука Српског лекарског друштва  
Медицински факултет у Фочи Универзитета у Источном Сарајеву  
Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија  
Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

**ДРУГИ СРПСКИ КОНГРЕС МОЛЕКУЛСКЕ МЕДИЦИНЕ**  
**THE SECOND SERBIAN MOLECULAR MEDICINE CONGRESS**

Фоча, 6-8. октобра 2023. / October, 6-8. 2023. Foca

**ДРУГИ СРПСКИ КОНГРЕС  
МОЛЕКУЛСКЕ МЕДИЦИНЕ**

**THE SECOND SERBIAN MOLECULAR  
MEDICINE CONGRESS**

**Издавач:**  
Српско друштво за имунологију, молекулску  
онкологију и регенеративну медицину, Крагујевац

**Publisher:**  
Serbian Society for Immunology, Molecular Oncology  
and Regenerative Medicine, Kragujevac

**За издавача:**  
Небојша Арсенијевић

**For the publisher:**  
Nebojsa Arsenijevic

**Уредник:**  
Небојша Арсенијевић

**Editor:**  
Nebojsa Arsenijevic

**Штампа:**  
Српско друштво за имунологију, молекулску  
онкологију и регенеративну медицину

**The press:**  
Serbian Society for Immunology, Molecular Oncology  
and Regenerative Medicine

**Тираж:** 30

**Circulation:** 30

ISBN 978-86-904000-2-7





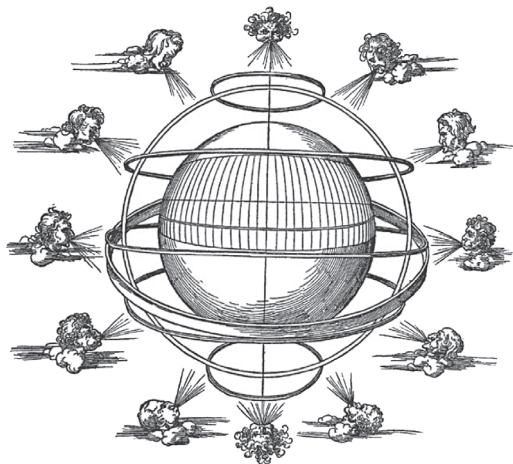
Српско друштво за имунологију, молекулску онкологију и регенеративну медицину  
Академија наука и умјетности Републике Српске  
Академија медицинских наука Српског лекарског друштва  
Медицински факултет у Фочи Универзитета у Источном Сарајеву  
Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија  
Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

**ДРУГИ THE SECOND  
СРПСКИ SERBIAN  
КОНГРЕС MOLECULAR  
МОЛЕКУЛСКЕ MEDICINE  
МЕДИЦИНЕ CONGRESS**

Фоча, 6-8. октобра 2023. / October, 6-8. 2023. Foca

**КЊИГА САЖЕТАКА  
ABSTRACT BOOK**

Фоча, 6-8. октобра 2023. / October, 6-8. 2023. Foca



## НАУЧНИ ОДБОР

### **Копредседници:**

Рајко Кузмановић  
Вељко Марић  
Марија Миловановић  
Данијела Максимовић Иванић  
Данило Војводић

### **Чланови:**

Драган Делишен  
Мирко Шошкић  
Светолик Аврамов  
Небојша Арсенијевић  
Милан Кулић  
Дејан Бокоњић  
Радмило Марић  
Сања Мијатовић  
Иван Јовановић  
Владислав Воларевић  
Јелена Миловановић  
Никола Танић  
Ружица Лукић  
Александар Арсенијевић  
Александар Ацовић  
Ирена Младеновић  
Зора Дајић  
Татјана Кањевац  
Срђан Машић  
Хелена Марић

## ОРГАНИЗАЦИОНИ ОДБОР

Вељко Марић  
Небојша Арсенијевић  
Марија Миловановић  
Јелена Миловановић  
Ружица Лукић  
Александар Арсенијевић  
Александар Ацовић  
Невена Видојевић  
Зорана Марић  
Владимир Марковић  
Драгана Јокановић  
Николина Елез Бурњаковић  
Драган Спајић  
Вања Пљеваљчић

Поштоване колеге, Драги пријатељи,

Први српски конгрес молекулске медицине одржан је у јуну прошле године. Слажемо се са вама да је сасвим неуобичајено да се конгреси одржавају у уза-  
стопним годинама. Но, ово није обична година. Ово је година у којој Факултет у  
Фочи славе тридесет година постојања. Ратне 1993. године најбоље што се могло  
учинити је и учињено. Мудри људи који су донели ту одлуку морали су знати да  
будућности нема и неће је ни бити ако не буде школа и у њој.

После ових тридесет тешких година Факултет је сада у добу зрелости када је  
способан за велике кораке и нове изазове у науци и образовању. Проток време-  
на и самопрегорни рад једини обезбеђују оно неизговорљиво искуство, односно  
знање неопходно академским заједницама. То искуство гласи: немали број људи  
зна шта треба урадити, много мање њих зна и како, још мање када а само посве-  
ћени знају шта се нипошто не ради. Деценије су потребне да то прећутано знање  
постане духовна својина свих наставника и студената.

Тако је и са нама пријатељима Факултета и Фоче. Кад пријатељи славе испуње-  
ни стрепњом због тамних облака који се нагомилавају морамо бити ту са њима да  
сви знају да је и нама важно да будемо ту. То није само част већ и обавеза.

Зато је и овај Конгрес преурањен али ће се одржати у правом тренутку.

Фочо, ХВАЛА ТИ.

Вељко Марић и Небојша Арсенијевић



# П Р О Г Р А М

05.10.2023. (четвртак)

15.00-18.00

СМЕШТАЈ УЧЕСНИКА КОНГРЕСА

06.10.2023. (петак)

Медицински факултет Фоча

8:00-9:00

РЕГИСТРАЦИЈА УЧЕСНИКА

9:00-9:15

ОТВАРАЊЕ СКУПА

Радно председништво:

Дејан Бокоњић, Вељко Марић, Небојша Арсенијевић

9:15-10:00

ИЗБОРНА СКУПШТИНА ДРУШТВА

10:00-13:00

ПЛЕНАРНА ПРЕДАВАЊА

**Радно председништво:**

Данијела Максимовић Иванић, Марија Миловановић, Никола Танић

10:00-10:20

Анђела Франић: **Синтеза, карактеризација и потенцијални антитуморски ефекти мононуклеарних 5,6-епокси-5,6-дихидро-1,10-фенантролинских комплекса платине(II)**

10:20-10:40

Благоје Мурганић: **Тамоксифен као вектор за платинске(II) и паладијумске(II) комплексе у третману рака дојке**

10:40-11:00

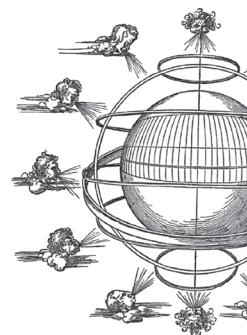
Јована Француз: **Антипролиферативна активност једињења са фууро-фуранонским сегментом**

11:00-11:20

Марија Лесјак: **Потенцијал природне нутритивне формуле у третману анемије**

11:20-11:40

Марија Мојић: **Повећана експресија GSTA4 у меланому подстиче избегавање антитуморског имунског одговора и повећава метастатски потенцијал**





11:40-12:00

Тамара Крајновић: **Нутрацеутици хмеља у сусрет терапији метастатског меланома**

12:00-12:20

Сања Јелача: ***In vitro* биолошка евалуација аналога ditert-бутилфенола на бази р-карборана**

12:20-13:00

ДИСКУСИЈА

13:00-14:00

КОКТЕЛ (ШВЕДСКИ СТО)

14:00-15:55

СЕСИЈА 1

**Радно председништво:**

Марија Лесјак, Сања Мијатовић, Гордана Радосављевић

14:00-14:10

Ђорђе С. Петровић: **Хемијска и биолошка испитивања паладијум(II) комплекса са неким дериватима фенилаланина**

14:10-14:20

Екатарина Михајловић: **Антитуморски потенцијал динуклеарних једињења гвожђа са изоцијанидним лигандом**

14:20-14:30

Иван Јаковљевић: **Утицај монтелукаста на специјацију есенцијалних јона метала у крвној плазми**

14:30-14:40

Лидија Алексић: **Индукција апоптозе HELA ћелијске линије стероидним 16,17-секо-16,17а-динитрилина**

14:40-14:50

Мајда Коленовић Серезлић: ***In vitro* антигенотоксичност нових хетерометалних динуклеарних комплекса**

14:50-15:00

Сања Белић: **Испитивање интеракција одабраних синтетичких психоактивних супстанци и њихових прекурсора у воденим растворима**

15:00-15:10

Ирфан Ђоровић: **Улога П-33 на степен оштећења слузнице желуца у експерименталном моделу акутног гастритиса**

15:10-15:20

Сања Зорнић: **Антимикробна активност динуклеарних паладијум(II) комплекса са ароматичним п-хетероцикличним мостним лигандима**

15:20-15:30

Теодора Комазец: Антитуморски потенцијал изонимесулида и његових деривата карборана

15:30-15:55

ДИСКУСИЈА

15:55-16:10

ПАУЗА

16:10-18:00

СЕСИЈА 2

**Радно председништво:**

Иван Јовановић, Александар Арсенијевић, Душан Михајловић

16:10-16:20

Наталиа Соловјова: Утицај централне лимфне дренаже као дела комбиноване мануалне терапије на лабораторијске знаке инфламације код пацијенткиње са псоријатичним артритисом

16:20-16:30

Љиљана Козић: Пиклиденозон, селективни агонист А3 рецептора, модулира функцију и фенотип неутрофила: увиди из *in vitro* студије

16:30-16:40

Душан Михајловић: Аутоантитела повезана са повећаним ризиком од малигнитета код пацијената са дерматомиозитисом

16:40-16:50

Владимир Марковић: Мезенхималне матичне ћелије култивисане у медијуму изложеном диму цигарета имају нарушена хепатопротективна својства

16:50-17:00

Николина Кастратовић: Утицај цигарета и електронских уређаја за испоруку никотина на оштећење плућа узроковано имунским ћелијама код мишева

17:00-17:10

Душан Марић: Интраназална примена егзозома у регенеративној медицини: обећавајући терапеутски фронт

17:10-17:20

Милош Васиљевић: Имуномодулацијска својства природних целулозних нанокристала

17:20-17:30

Наташа Медић-Милијић: Прогностички и клинички значај експресије PD-11, EGFR и андрогеног рецептора (AR) код пацијената са троструко негативним карциномом дојке (ТНКД)



ЗАВРШНО ПЛЕНАРНО ПРЕДАВАЊЕ

17:30-17:50

Душан Лалошевић: Морфолошка и молекуларна дијагностика и диференцијална дијагностика мултилокуларне ехинококозе

17:50-18:00

ДИСКУСИЈА

18:00-18:15

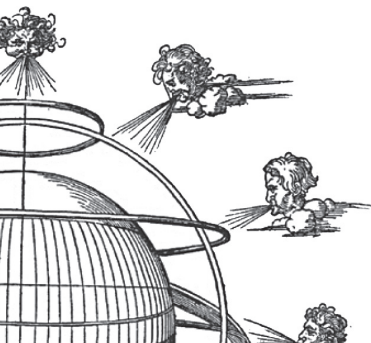
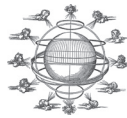
ЗАКЉУЧИВАЊЕ РАДНОГ ДЕЛА КОНГРЕСА

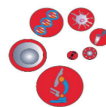
20:00-23:00

СВЕЧАНА ВЕЧЕРА

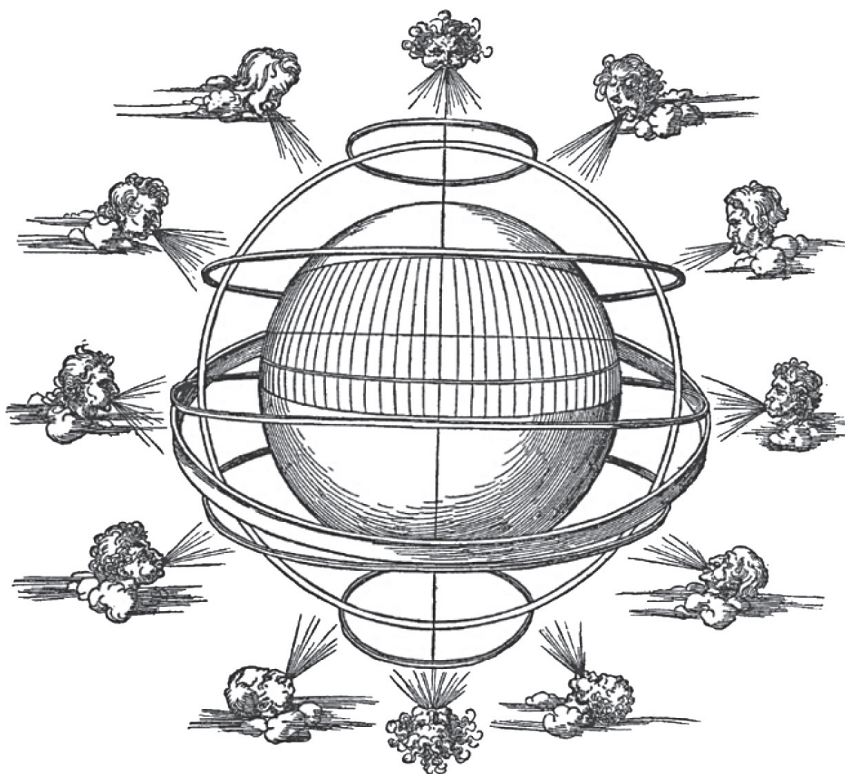
07.10.2023. (субота)

ИЗЛЕТ У ТРЕБИЊЕ, СА ПОСЕТОМ И ОБРОКОМ  
У ВИНАРИЈИ ВУКОЈЕ





# КЊИГА САЖЕТАКА ABSTRACT BOOK





# СИНТЕЗА, КАРАКТЕРИЗАЦИЈА И ПОТЕНЦИЈАЛНИ АНТИТУМОРСКИ ЕФЕКТИ МОНОНУКЛЕАРНИХ 5,6-ЕПОКСИ-5,6-ДИХИДРО-1,10-ФЕНАНТРОЛИНСКИХ КОМПЛЕКСА ПЛАТИНЕ(II)

Анђела Франић<sup>1</sup>, Милица Димитријевић Стојановић<sup>2</sup>, Милена Јуришевић<sup>3</sup>, Невена Гајовић<sup>4</sup>, Небојша Арсенијевић<sup>2</sup>, Иван Јовановић<sup>4</sup>, Бојан Стојановић<sup>5</sup>, Слободанка Митровић<sup>2</sup>, Јакоб Кљун<sup>6</sup>, Снежана Рајковић<sup>1</sup>, Зорана Марић Остовић<sup>7</sup>, Невена Видојевић<sup>7</sup>, Ружица Лукић<sup>7</sup>, Марина Јовановић<sup>8</sup>, Марија Живковић<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Универзитет у Крајеву, Природно-математички факултет, Институт за хемију

<sup>2</sup> Универзитет у Крајеву, Факултет медицинских наука, Катедра за патологiju

<sup>3</sup> Универзитет у Крајеву, Факултет медицинских наука, Катедра за фармацију

<sup>4</sup> Универзитет у Крајеву, Факултет медицинских наука, Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија

<sup>5</sup> Универзитет у Крајеву, Факултет медицинских наука, Катедра за хирургију

<sup>6</sup> Универзитет у Љубљани, Факултет за хемију и хемијску технологију, Институт за хемију и диохемију

<sup>7</sup> Универзитет у Источном Сарајеву, Медицински факултет, Катедра за микробиологију и имунологију, Република Српска, Босна и Херцеговина

<sup>8</sup> Универзитет у Крајеву, Факултет медицинских наука, Катедра за оториноларингологију

## САЖЕТАК

Четири Pt(II) комплекса опште формуле [Pt(L)(5,6-epoxy-1,10-phen)], где је L анјон малонске киселине (mal, Pt1), 2-метилмалонске киселине (Me-mal, Pt2), 2,2-диметилмалонске киселине (Me<sub>2</sub>-mal, Pt3) и 1,1-циклобутандикарбоксилне киселине (CBDSA, Pt4) и 5,6-epoxy-1,10-phen је 5,6-епокси-5,6-дихидро-1,10-фенантролин.

Комплекси су синтетисани и окарактерисани елементалном микроанализом и различитим спектроскопским техникама. Кристална структура анхидрованог комплекса Pt3 одређена је дифракцијом рендгенских зрака монокристала. Антиканцерогена активност комплекса платине(II) је испитивана у људским и мишјим ћелијским линијама карцинома дојке и колоректума, као и у здравој линији мезенхималних матичних ћелија миша, коришћењем МТТ теста.

Испитивани комплекси платине(II) показују снажну цитотоксичну активност против ћелија карцинома дојке миша (4T1), хуманих (HCT116) и мишјих (CT26) ћелија колоректалног карцинома. Pt3 комплекс показује јачу селективност против туморских ћелија у поређењу са другим испитиваним комплексима платине(II) и на тај начин показује корисну анти туморску активност, углавном индукујући апоптозу и инхибицију пролиферације и миграције туморских ћелија. Pt3 комплекс, такође показује значајну *in vivo* анти туморску активност у ортотопском моделу тумора дојке, без токсичности за јетру, дубреге, плућа и срце.

Сви резултати указују да новосинтетисани комплекси платине(II) имају добру анти туморску активност на туморске ћелије карцинома дојке и колоректалног

карцинома и имају потенцијал да постану могући кандидати у антиканцерској терапији.

**Кључне речи:** комплекси платине(II), цитотоксичност, апоптоза, раст карцинома дојке, токсичност

**Рад је публикован:** Dimitrijevic Stojanovic M, Franich A, Jurisevic M, Gajovic N, Arsenijevic N, Jovanovic I, Stojanovic B, Mitrovic S, Kljun J, Rajkovic S, Zivkovic M. Platinum(II) complexes with malonic acids: Synthesis, characterization, *in vitro* and *in vivo* antitumor activity and interactions with biomolecules. Journal of Inorganic Biochemistry 2022; 231: 111773 DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2022.111773. (IF= 3,9)

**Истраживање је финансирано средствима:** Овај рад је финансијски подржало Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Споразум бр. 451-03-68/2022-14/200122, 451-03-9/2021-14/200111 и ОН175069), билатерални пројекат са НР Кином (06/2018), Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (МП02/19, ЈП02/20, ЈП22/ 19, ЈП19/19, ЈП17/19), Српска академија наука и уметности (Програм стратешких пројеката- Уговор о додели бесповратних средстава бр. 01-2019-Ф65 и пројекат број Ф128), Словеначка истраживачка агенција (грант П1-0175). ЕН→ФИСТ Центар изврности, Трг ОФ 13, СИ-1000 Љубљана, Словенија, добија признање за употребу СуперНова дифрактометра.

# SYNTHESIS, CHARACTERISTICS AND POTENTIAL ANTITUMOR EFFECTS OF MONONUCLEAR 5,6-EPOXY-5,6-DIHYDRO-1,10-PHENANTHROLINE PLATINUM(II) COMPLEXES

**Andela Franić<sup>1</sup>**, Milica Dimitrijević Stojanović<sup>2</sup>, Milena Jurišević<sup>3</sup>, Nevena Gajović<sup>4</sup>, Nebojša Arsenijević<sup>2</sup>, Ivan Jovanović<sup>4</sup>, Bojan Stojanović<sup>5</sup>, Slobodanka Mitrović<sup>2</sup>, Jakob Kljun<sup>6</sup>, Snežana Rajković<sup>1</sup>, Zorana Marić Ostović<sup>7</sup>, Nevena Vidojević<sup>7</sup>, Ružica Lukić<sup>7</sup>, Marina Jovanović<sup>8</sup>, Marija Živković<sup>3</sup>

<sup>1</sup> University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Kragujevac, Serbia

<sup>2</sup> University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Pathology, Kragujevac, Serbia

<sup>3</sup> University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Pharmacy, Kragujevac, Serbia

<sup>4</sup> University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences,  
Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research

<sup>5</sup> University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Surgery, Kragujevac, Serbia

<sup>6</sup> University of Ljubljana, Faculty of Chemistry and Chemical Technology,  
Department of Chemistry and Biochemistry, Ljubljana, Slovenia

<sup>7</sup> University of East Sarajevo, Medical faculty, Department of microbiology and immunology,  
Foča, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

<sup>8</sup> University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Otorhinolaryngology, Kragujevac, Serbia

## ABSTRACT

Four Pt(II) complexes of the general formula [Pt(L)(5,6-epoxy-1,10-phen)], where L is an anion of either malonic acid (mal, **Pt1**), 2-methylmalonic acid (Me-mal, **Pt2**), 2,2-dimethylmalonic acid (Me<sub>2</sub>-mal, **Pt3**) or 1,1-cyclobutanedicarboxylic acid (CBD-CA, **Pt4**) and 5,6-epoxy-1,10-phen is 5,6-epoxy-5,6-dihydro-1,10-phenanthroline.

Complexes were synthesized and characterized by elemental microanalysis and different spectroscopic techniques. The crystal structure of anhydrous **Pt3** complex was determined by single crystal X-ray diffraction. The in vitro anticancer activity of the platinum(II) complexes was investigated in human and murine cancer cell lines as well as in a normal murine cell line by MTT assay.

The results show that the investigated platinum(II) complexes exhibit potent cytotoxic activity against murine breast carcinoma cells (4T1), human (HCT116) and murine (CT26) colorectal carcinoma cells. The **Pt3** complex shows stronger selectivity against cancer cells compared to other platinum(II) complexes tested and thus exhibits beneficial antitumor activity, mainly by inducing apoptosis and inhibiting cell proliferation and migration. The **Pt3** complex also exhibits significant in vivo antitumor activity in the orthotopic 4T1 tumor model without detected liver, kidney, lung, and heart toxicity.

All the results indicate that these novel platinum(II) complexes have good antitumor activity on breast and colorectal cancer and have the potential to become possible candidates for cancer treatment.

**Key words:** platinum(ii) complexes, cytotoxicity, apoptosis, breast cancer growth, toxicity

**The paper is published:** Dimitrijevic Stojanovic M, Franich A, Jurisevic M, Gajovic N, Arsenijevic N, Jovanovic I, Stojanovic B, Mitrovic S, Kljun J, Rajkovic S, Zivkovic M. Platinum(II) complexes with malonic acids: Synthesis, characterization, *in vitro* and *in vivo* antitumor activity and interactions with biomolecules. Journal of Inorganic Biochemistry 2022; 231: 111773 DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2022.111773. (IF= 3,9)

**Funding:** This work has been financially supported by the Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (Agreement No. 451-03-68/2022-14/200122, 451-03-9/2021-14/200111 and ON175069), bilateral project with PR China (06/2018), the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (MP02/19, JP02/20, JP22/ 19, JP19/19, JP17/19), and the Serbian Academy of Sciences and Arts (Strategic projects programme- Grant agreement No. 01-2019-F65 and Project No. F128). This research has been financially supported by the Slovenian Research Agency (grant P1-0175). The EN→FIST Centre of Excellence, Trg OF 13, SI-1000 Ljubljana, Slovenia, is acknowledged for the use of the Super-Nova diffractometer.



# ТАМОКСИФЕН КАО ВЕКТОР ЗА ПЛАТИНСКЕ(II) И ПАЛАДИЈУМСКЕ(II) КОМПЛЕКСЕ У ТРЕТМАНУ РАКА ДОЈКЕ

Благоје Мурганић<sup>1</sup>, Александар Казимир<sup>2</sup>, Сања Јелача<sup>3</sup>, Никола Танић<sup>3</sup>, Наста Танић<sup>1</sup>,  
Евamarие Хеј-Хокинс<sup>2</sup>, Сања Мијатовић<sup>3</sup>, Данијела Максимовић-Иванић<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт за нуклеарне науке "Винча", Институт од националног значаја за  
Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија

<sup>2</sup>Институт за неорганску хемију, Универзитет у Лајпцигу, Лајпциг, Немачка

<sup>3</sup>Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић”, Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија

## САЖЕТАК

Рак дојке је најчешћи облик рака код жена са приближно 70% случајева који су позитивни на хормонске рецепторе (HR+). Прекомерна експресија естрогенског рецептора (ER) је уско повезана са пролиферацијом тумора. Антиестрогенске терапије, нпр. са тамоксифеном, су уобичајени и ефикасни приступи у лечењу ER+ рака дојке. Иако терапија тамоксифеном спада у групу циљаних терапија, његова ефикасност је доказана и код хормон-независних типова карцинома дојке, што указује на присуство других интрацелуларних циљних молекула. Иако је тамоксифен показао значајну ефикасност у лечењу ER-позитивних карцинома дојке, бројни пацијенти су развили резистенцију. У циљу повећања његовог потенцијала и превазилажења резистенције, тамоксифен је модификован металима као што су платина (Pt) и паладијум (Pd). Једињења заснована на Pt традиционално се користе у хемиотерапији, док комплекси Pd могу смањити токсичност и бити ефикаснији против одређених врста рака. Циљ ове студије био је да се процени ефикасност тамоксифена модификованог са Pt и Pd на панелу ћелијских линија рака дојке са различитим статусом експресије рецептора. Дериват тамоксифена који се користи као лиганд, смањило је вијабилност туморских ћелија независно од експресије ER, што указује да се његово антигуморско дејство може превасходно приписати ER-независном деловању. Експериментални лекови су изазвали апоптозу независну од каспаза, са израженијим ефектом у случају деривата на бази Pd. Ефикасност деривата Pd може се додатно повећати укидањем процеса аутофагије. Узето заједно, дериватизација тамоксифена је обећавајућа стратегија у дизајну хибридних молекула.

**Кључне речи:** рак дојке, тамоксифен, метали, хормонска терапија, лекови

**Истраживање је финансирано средствима:** Министарства науке, технолошког развоја и иновација Републике Србије, број: 451-03-47/2023-01/200007.

# TAMOXIFEN AS A VECTOR FOR PLATINUM(II) AND PALLADIUM(II) COMPLEXES IN BREAST CANCER TREATMENT

Blagoje Murganić<sup>1</sup>, Aleksandr Kazimir<sup>2</sup>, Sanja Jelača<sup>3</sup>, Nikola Tanić<sup>3</sup>, Nasta Tanić<sup>1</sup>,  
Evamarie Hey-Hawkins<sup>2</sup>, Sanja Mijatović<sup>3</sup>, Danijela Maksimović-Ivanić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Nuclear Sciences "Vinča", National Institute of Republic of Serbia,  
University of Belgrade, Vinča, Republic of Serbia.*

<sup>2</sup>*Institute of Inorganic Chemistry, Faculty of Chemistry and Mineralogy,  
Leipzig University, Leipzig, Germany*

<sup>3</sup>*Institute for Biological Research "Siniša Stanković", National Institute of Republic of Serbia,  
University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

## ABSTRACT

Breast cancer is the most prevalent form of cancer in women, with approximately 70% of cases being hormone receptor positive (HR+). While overexpression of estrogen receptor (ER) is closely related with tumor proliferation, anti-estrogen therapies, e.g., with tamoxifen, are common and effective approaches. Although treatment with tamoxifen belongs to the group of targeted therapies, its effectiveness has also been proven in hormone-independent types of breast cancer, which indicates the presence of intracellular off-targets. Apart of the fact that tamoxifen showed significant efficiency in the treatment of ER+ breast cancers, numerous patients developed resistance towards it. With an aim to amplify its potential and overcome resistance, tamoxifen has been modified with transition metals such as platinum (Pt) and palladium (Pd). Pt-based compounds have traditionally been used in cancer chemotherapy, while Pd complexes may lower the toxicity and be more effective against certain types of cancer. The aim of this study was to evaluate the efficacy of tamoxifen modified with Pt and Pd on a panel of breast cancer cell lines with different receptor expression status. The tamoxifen derivative used as ligand diminished the viability of tumor cells independently of ER expression, indicating that its antitumor action can be dominantly ascribed to a ER-independent action. The experimental drugs induced caspase independent apoptosis, with a more pronounced effect in the case of the Pd-based derivatives. The efficacy of the Pd derivate can be further increased by abolishment of the autophagic process. Taken together, derivatization of tamoxifen is a promising strategy for hybrid molecule design.

**Key words:** breast cancer, tamoxifen, cancer drugs, metals, hormone therapy

**Funding:** This research was funded by the Ministry of Science, Technological Development, and Innovation of the Republic of Serbia, grant number 451-03-47/2023-01/200007.

# МЕЗЕНХИМАЛНЕ МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ КУЛТИВИСАНЕ У МЕДИЈУМУ ИЗЛОЖЕНОМ ДИМУ ЦИГАРЕТА ИМАЈУ НАРУШЕНА ХЕПАТОПРОТЕКТИВНА СВОЈСТВА

Владимир Марковић<sup>1</sup>, Драгица Павловић<sup>1</sup>, Драгана Папић<sup>1</sup>, Николина Кастратовић<sup>1</sup>, Милица Димитријевић Стојановић<sup>2</sup>, Александар Арсенијевић<sup>1</sup>, Ана Воларевић<sup>1</sup>, Александар Ацовић<sup>3</sup>, Владислав Воларевић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центар за смањење штете од биолошких и хемијских зависности, Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Крајевац, Србија

<sup>2</sup>Катедра за историју, Факултет медицинских наука, Универзитета у Крајеву, Крајевац, Србија

<sup>3</sup>Департаман за епидемиологију, Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Крајевац, Србија

## САЖЕТАК

Ефекти пушења на хепатопротекцију посредовану мезенхимским матичним ћелијама (енгл. mesenchymal stem cell, MSC) у инфламираној јетри нису у потпуности истражени и објашњени. У складу са тим, коришћењем модела мишјег хепатитиса изазваног  $\alpha$ -галактозилцерамидом ( $\alpha$ -GalCer), упоредили смо хепатопротективна својства MSC које су култивисане у медијуму изложеном диму цигарета (MSCWS-CM) са MSC које су култивисане у стандардним условима (MSCCM). MSCWS-CM су испољиле проинфламаторни фенотип, нису биле у стању да оптимално продукују имуносупресивне цитокине и секретовале су значајно више инфламаторних цитокина од MSCCM. MSCWS-CM нису биле у стању да спрече оштећење хепатоцита и показале су мању способност инхибиције инфламаторних макрофага, дендритских ћелија и лимфоцита инфилтрираних у јетри. MSCWS-CM нису изазвале исто повећање антиинфламаторних IL-10-секретујућих FoxP3+CD4+ и CD8+ Т регулаторних ћелија као MSCCM. У складу са овим запажањима су и наши резултати добијени на моделу хуманих мононуклеарних ћелија третираних мезенхималним матичним ћелијама. MSCWS-CM нису биле у стању да оптимално смање лучење инфламаторних и хепатотоксичних цитокина у активираним људским Т лимфоцитима и природно убилачким Т ћелијама (енгл. *natural killer T cells*, NKT), потврђујући предлог да излагање диму цигарета у великој мери нарушава способност MSC да редукују инфламацију узроковану имунским ћелијама.

**Кључне речи:** дим цигарета, мезенхималне матичне ћелије; имуносупресија; хепатопротекција; терапија; акутни хепатитис

**Истраживање је финансирано средствима:** Ова студија је финансирана грантом Фондације за свет без дима (*Foundation for a Smoke-Free World, Inc.* ("FSFW"), а US nonprofit 501(c)(3), independent global organization, грант бр. В3-032 који је примио В.В.). Мисија FSFW је да прекине пушење у овој генерацији. Садржај, избор и презентација чињеница, као и сва мишљења која су овде изражена, искључива су одговорност аутора и ни под којим околностима неће се сматрати да одражавају ставове Фондације за свет без дима.

# MESENCHYMAL STEM CELLS CULTURED IN CIGARETTE SMOKE-EXPOSED MEDIUM HAVE IMPAIRED HEPATOPROTECTIVE PROPERTIES

Vladimir Markovic<sup>1</sup>, Dragica Pavlovic<sup>1</sup>, Dragana Papic<sup>1</sup>, Nikolina Kastratovic<sup>1</sup>, Milica Dimitrijevic Stojanovic<sup>2</sup>, Aleksandar Arsenijevic, Ana Volarevic<sup>1</sup>, Aleksandar Acovic<sup>3</sup> and Vladislav Volarevic<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for harm reduction of biological and chemical hazards, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>2</sup>Department of Pathology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>3</sup>Department of Dentistry, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

## ABSTRACT

Effects of smoking on mesenchymal stem cell (MSC)-mediated hepatoprotection in the inflamed liver are not completely investigated and explained. Herewith, by using  $\alpha$ -galactosylceramide ( $\alpha$ -GalCer)-induced hepatitis murine model, we compared hepatoprotective properties of MSCs which were cultured in whole cigarette smoke-exposed medium (MSC<sup>WS-CM</sup>) with MSCs that were grown under standard conditions (MSC<sup>CM</sup>). MSC<sup>WS-CM</sup> had a pro-inflammatory phenotype, were unable to optimally produce immunosuppressive cytokines and secreted significantly more inflammatory cytokines than MSC<sup>CM</sup>. MSC<sup>WS-CM</sup> were not able prevent hepatocyte damage and showed lower ability to inhibit liver-infiltrated inflammatory macrophages, dendritic cells (DCs), and lymphocytes. MSC<sup>WS-CM</sup> did not generate the same increase in anti-inflammatory IL-10-producing FoxP3+CD4+ and CD8+ T regulatory cells as MSC<sup>CM</sup>. Correspondingly to these observations were our findings which were obtained in MSC-treated human mononuclear cells. MSC<sup>WS-CM</sup> were unable to optimally reduce secretion of inflammatory and hepatotoxic cytokines in activated human T lymphocytes and natural killer T cells, confirming the proposal that exposure to cigarette smoke greatly impairs the capacity of MSCs to suppress immune cell-driven liver inflammation.

**Key words:** cigarette smoke, mesenchymal stem cells; immunosuppression; hepatoprotection; therapy; acute hepatitis

**Funding:** This study was funded with a grant from the Foundation for a Smoke-Free World, Inc. ("FSFW"), a US nonprofit 501(c)(3), independent global organization (the grant No. W3-032 received by VV). FSFW's mission is to end smoking in this generation. The contents, selection, and presentation of facts, as well as any opinions expressed herein are the sole responsibility of the authors and under no circumstances shall be regarded as reflecting the positions of the Foundation for a Smoke-Free World, Inc.

# МОРФОЛОШКА И МОЛЕКУЛАРНА ДИЈАГНОСТИКА И ДИФЕРЕНЦИЈАЛНА ДИЈАГНОСТИКА МУЛТИЛОКУЛАРНЕ ЕХИНОКОКОЗЕ

Душан Лалошевић<sup>1,2</sup>, Весна Лалошевић<sup>3</sup>, Вук Врачар<sup>3</sup>, Данијела Петровић, Гордана Козодеровић,  
Мирјана Живојиновић<sup>2,5</sup>, Валентина Исаковић<sup>5</sup>, Дејан Иванов<sup>2,5</sup>, Владан Тривуновић<sup>5</sup>,  
Маја Ружић<sup>2,5</sup>, Горан Ђенадић<sup>6</sup>, Наташа Миладиновић-Тасић<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Пастеров завод Нови Сад, Универзитет у Новом Саду

<sup>2</sup>Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду

<sup>3</sup>Пољопривредни факултет Нови Сад

<sup>4</sup>Училијски факултет Сомбор

<sup>5</sup>Универзитетски клинички центар Војводине, Нови Сад

<sup>6</sup>Општа болница Шабац

<sup>7</sup>Институт за јавно здравље Ниш, Универзитет у Нишу, Медицински факултет

## САЖЕТАК

**Увод:** Инфективни агенс мултилокуларне или алвеоларне ехинококозе, *Echinococcus multilocularis*, је врста различита од *E. granulosus* који изазива цистичну ехинококозу, не само по биолошким својствима него и по клиничком значају код људи, који могу бити ретки и случајни прелазни домаћини. Дефинитивни домаћини за *E. multilocularis* су обично лисице и шакали, а ретки су домаћи сисари попут паса и мачака. Инфекције цистичном ехинококозом код људи су ендемске, али до сада у Србији још није препозната мултилокуларна ехинококоза, која је много опаснија од цистичне.

**Материјал, испитаници и методе:** Морфолошки и молекуларно су анализирани суспектни хумани случајеви ехинококозе под сумњом на мултилокуларну ехинококозу из редовног клиничког материјала. Молекуларна анализа је рађена конвенционалном ПЦР и продукт од 200 бп је секвенциран. Урађена је и серолошка потврда ЕЛИСА и Вестерн блот техником.

**Резултати:** Доказана су два случаја мултилокуларне ехинококозе и серија случајева мултипле цистичне ехинококозе. Пацијенти су анализирани клинички, радиолошки, епидемиолошки, а они који су били операбилни, лечени су хируршки. Сви су добијали албендазол, пацијенти са мултилокуларним ехинококом, непрекидно.

**Закључак:** Мултилокуларна ехинококоза представља новорегистровану зоонозу у Србији.

**Кључне речи:** ехинококоза, мултилокуларна, цистична, хумана

**Рад је публикован:** Lalošević D, Živojinov M, Isaković V, Ivanov D, Trivunović V, Ružić M. The first human case of multilocular echinococcosis recognized in Serbia. *Srp Arh Celok Lek* 2023(7–8): 453-456. <https://doi.org/10.2298/SARH230112060L>

**Истраживање је финансирано средствима:** Покрајински секретаријат за високо образовање и научноистраживачку делатност број 142-451-2626/2021-01; Министарство науке, технолошког развоја и иновација бр.: 451-03-47/2023-01/200117

# MORPHOLOGICAL, MOLECULAR AND DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF MULTILOCULAR ECHINOCOCCOSIS

Dušan Lalošević<sup>1,2</sup>, Vesna Lalošević<sup>3</sup>, Vuk Vračar<sup>3</sup>, Danijela Petrović<sup>4</sup>, Gordana Kozoderović<sup>4</sup>, Mirjana Živojinov<sup>2,5</sup>, Valentina Isaković<sup>5</sup>, Dejan Ivanov<sup>2,5</sup>, Vladan Trivunović<sup>5</sup>, Maja Ružić<sup>2,5</sup>, Goran Đenadić<sup>6</sup>, Nataša Miladinović-Tasić<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Pasteur Institute Novi Sad, University of Novi Sad, Novi Sad

<sup>2</sup>Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Novi Sad

<sup>3</sup>Faculty of Agriculture, Novi Sad

<sup>4</sup>Faculty of Education, Sombor

<sup>5</sup>University Clinical Center of Vojvodina, Novi Sad

<sup>6</sup>General Hospital Šabac

<sup>7</sup>Institute for Public Health Niš, University of Niš, Faculty of Medicine

## ABSTRACT

The infectious agent of multilocular or alveolar echinococcosis, *Echinococcus multilocularis*, is a species different from *E. granulosus* that causes cystic echinococcosis, not only in biological properties but also in clinical importance in humans, which are rare and accidental intermediate hosts. Definitive hosts for *E. multilocularis* are usually foxes and jackals, and domestic mammals such as dogs and cats are rare. Cystic echinococcosis infection in humans are endemic, but cases of multilocular echinococcosis, which are much more dangerous have not been recognized in Serbia up to date.

**Material, subjects and methods:** Suspected human cases of echinococcosis from regular clinical material were analyzed morphologically and by molecular methods. Molecular analysis was performed by conventional PCR and the 200 bp product was sequenced. Serological confirmation by ELISA and Western blot technique was also performed.

**Results:** Two cases of multilocular echinococcosis and a series of cases of multiple cystic echinococcosis were confirmed. Patients were analyzed clinically, radiologically, and epidemiologically, and those who were operable were treated surgically. All received albendazole, patients with multilocular echinococcus, continuously.

**Conclusion:** Multilocular echinococcosis is new zoonotic pathogen in Serbia.

**Key words:** echinococcosis, multilocular, cystic, human.

**The paper is published:** Lalošević D, Živojinov M, Isaković V, Ivanov D, Trivunović V, Ružić M. The first human case of multilocular echinococcosis recognized in Serbia. *Srp Arh Celok Lek* 2023(7–8): 453–456. <https://doi.org/10.2298/SARH230112060L>

**Funding:** Provincial Secretariat for Higher Education and Scientific Research, number 142-451-2626/2021-01; Ministry of Science, Technological Development and Innovation No.: 451-03-47/2023-01/200117

# ИНТРАНАЗАЛНА ПРИМЕНА ЕГЗОЗОМА У РЕГЕНЕРАТИВНОЈ МЕДИЦИНИ: ОБЕЋАВАЈУЋИ ТЕРАПЕУТСКИ ФРОНТ

Душан Марић<sup>1</sup>, Данило Војводић<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Орфо МД Поликлиника Нови Сад, Србија

<sup>2</sup>ВМА, Београд, Србија

## САЖЕТАК

Унапређења у регенеративној медицини довела су до иновативних приступа, међу којима су терапије засноване на егзозомима привукле знатну пажњу. Егзозоми, мале екстрацелуларне везикуле које садрже различите биоактивне молекуле, појавиле су се као моћни посредници интерцелуларне комуникације и обнове ткива. Овај прегледни рад истражује растући интерес за коришћење интраназалне администрације егзозома као неинвазивног и ефикасног метода за примене у регенеративној медицини. Јединствене карактеристике интраназалне администрације, укључујући заобилажење крвно-моздане баријере и олакшавање циљане испоруке, чине је обећавајућим за терапије засноване на егзозомима. Овај прегледни рад осветљава скорашње преклиничке и клиничке студије које испитују регенеративни потенцијал интраназално примењених егзозома код различитих болести и повреда ткива, наглашавајући њихов терапеутски значај, изазове и будуће перспективе.

**Кључне речи:** интраназална апликација, егзозоми

# INTRANASAL EXOSOME APPLICATION IN REGENERATIVE MEDICINE: A PROMISING THERAPEUTIC FRONTIER

Dušan Marić<sup>1</sup>, Danilo Vojvodić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Ortho MD Polyclinic Novi Sad, Serbia*

<sup>2</sup>*Military Medical Academy, Belgrade, Serbia*

## ABSTRACT

Advancements in regenerative medicine have led to innovative approaches, among which exosome-based therapies have garnered significant attention. Exosomes, small extracellular vesicles containing various bioactive molecules, have emerged as potent mediators of intercellular communication and tissue repair. This abstract explores the growing interest in utilizing intranasal delivery of exosomes as a non-invasive and effective method for regenerative medicine applications. The unique characteristics of intranasal administration, including bypassing the blood-brain barrier and facilitating targeted delivery, make it a promising route for exosome-based therapies. This review highlights recent preclinical and clinical studies investigating the regenerative potential of intranasally administered exosomes in various diseases and tissue injuries, emphasizing their therapeutic promise, challenges, and future prospects.

**Key words:** intranasal application, exosomes

# АУТОАНТИТЕЛА ПОВЕЗАНА СА ПОВЕЋАНИМ РИЗИКОМ ОД МАЛИГНИТЕТА КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ДЕРМАТОМИОЗИТИСОМ

Душан Михајловић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву,  
Фоча, Република Српска, Босна и Херцеговина

## САЖЕТАК

Дерматомиозитис је хронична инфламаторна болест која захвата кожу и мишиће. Најчешће се јавља код одраслих особа, али је могућа и код деце. Ризик од малигнитета код одраслих особа са дерматомиозитисом неколико пута је већи у поређењу са општом популацијом и то најчешће у првој години након дијагнозе дерматомиозитиса. Један од карактеристичних лабораторијских налаза повезаних са дерматомиозитисом је присуство циркулишућих аутоантитела која су класификована у две подгрупе: антитела специфична за миозитис и антитела повезана са миозитисом. Показано је да би специфична антитела могла бити повезана са повећаним ризиком од малигнитета. Тренутни литературни подаци указују да је најјача корелација са малигнитетом показана код пацијената позитивних на анти-TIF1- $\gamma$ . Такође је описано повећање ризика од тумора код пацијената са анти-NXP2 и анти-SAE антителима. Присуство других аутоантитела такође може бити повезано са повећаним ризиком од малигнитета. Према томе, пацијенти са циркулишућим анти-TIF1- $\gamma$ , анти-NXP2 или анти-SAE треба да буду врло пажљиво праћени због могуће појаве малигнитета.

Кључне речи: аутоантитела, дерматомиозитис, карцином

# AUTOANTIBODIES ASSOCIATED WITH INCREASED RISK OF MALIGNANCY IN PATIENTS WITH DERMATOMYOSITIS

Dušan Mihajlović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Medical faculty Foča, University of East Sarajevo, Foča, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina*

## ABSTRACT

Dermatomyositis is a persistent inflammatory condition that targets the skin and muscle tissues. While it predominantly appears in adults, children can also be affected. In adults diagnosed with dermatomyositis, the likelihood of developing malignancies is several times greater compared to the broader population, especially within the first year following the diagnosis. A distinctive laboratory characteristic of dermatomyositis is the detection of circulating autoantibodies, segregated into two categories: antibodies that are specific to myositis and those associated with myositis. Research indicates that certain antibodies might be linked to a heightened risk of malignancy. Current scientific literature suggests that the most significant association with malignancy is observed in patients who test positive for anti-TIF1- $\gamma$  antibodies. Additionally, there is a noted escalation in tumor risk among individuals with anti-NXP2 and anti-SAE antibodies. Consequently, individuals with detectable levels of anti-TIF1- $\gamma$ , anti-NXP2, or anti-SAE antibodies should be closely monitored for the potential malignant developments.

**Key words:** autoantibodies, dermatomyositis, carcinoma

# ХЕМИЈСКА И БИОЛОШКА ИСПИТИВАЊА ПАЛАДИЈУМ(II) КОМПЛЕКСА СА НЕКИМ ДЕРИВАТИМА ФЕНИЛАЛАНИНА

Ђорђе С. Петровић<sup>1</sup>, Сандра С. Јовичић Милић<sup>5</sup>, Маја Б. Ђукић<sup>1</sup>, Ивана Д. Радојевић<sup>2</sup>, Милена М. Јуришевић<sup>3</sup>, Невена М. Гајовић<sup>4</sup>, Анђела Петровић<sup>4</sup>, Небојша Н. Арсенијевић<sup>4</sup>, Иван П. Јовановић<sup>4</sup>, Едина Авдовић<sup>5</sup>, Данијела Љ. Стојковић<sup>5</sup>, Верица В. Јевтић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Универзитет у Крајевцу, Природно-математички факултет,  
Институт за хемију, Крајевац, Србија

<sup>2</sup>Универзитет у Крајевцу, Природно-математички факултет,  
Институт за биологију и екологију, Крајевац, Србија

<sup>3</sup>Универзитет у Крајевцу, Факултет медицинских наука,  
Катедра за фармацију, Крајевац, Србија

<sup>4</sup>Универзитет у Крајевцу, Факултет медицинских наука,  
Центар за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија, Крајевац, Србија

<sup>5</sup>Универзитет у Крајевцу, Институт за информационе технологије,  
Департаман за природно-математичке науке, Крајевац, Србија

## САЖЕТАК

Четири нова лиганда пропилендиаминска деривата фенилаланина ( $R_2$ -S,S-pdda·2HCl; L1-L4) и одговарајућа комплекса паладијум(II) (C1-C4) су синтетисана и окарактерисана елементалном микроанализом, инфрацрвеном,  $^1H$  и  $^{13}C$  NMR спектроскопијом. За синтезу и пречишћавање лиганда коришћена је нова метода. Интеракције паладијум(II) комплекса са хуманим серумом албумина (HSA) проучаване су флуоресцентном спектроскопијом. Испитивања су показала да се комплекси могу транспортовати до циљних ћелија везивањем за HSA, док је најбоље резултате везивања показао комплекс C4. Симулацијом молекуларног докинга објашњено је везивање комплекса за HSA и добијени резултати су у доброј корелацији са експерименталним подацима о начину везивања паладијум(II) комплекса за HSA. *In vitro* цитотоксична активност синтетисаних лиганда и паладијум(II) комплекса испитивана је на четири туморске ћелијске линије (мишје ћелијске линије карцинома дојке (4T1) и колоректалног карцинома (CT26), хумане ћелијске линије карцинома дојке (MDA-MD-468) и колоректалног карцинома (HCT116), као и на здравим мезенхималним матичним ћелијама (mMSC)) применом МТТ теста. Према добијеним резултатима лиганд L4 се истакао као најактивније и најселективније једињење и као добар агенс за будућа *in vivo* испитивања. Даље испитивање лиганда L4 и одговарајућег комплекса C4 показало је да изазивају ћелијску смрт углавном апоптозом. Лиганд L4 је утицао на заустављање циклуса у G0/G1 фази и смањио пролиферативни капацитет туморских ћелија. *In vitro* антимикуробна активност за лиганде и одговарајуће Pd(II) комплексе испитана је на једанаест микроорганизама (осам сојева патогених

бактерија и три врсте квасца) методом микродилуције и одређене су минималне инхибиторне концентрације (МИС) и минималне микробицидне концентрације (ММС). Најбоље резултате (МИС 3,4 и 7,8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) показали су L3 и L4 на *B. subtilis* ATTC 6633 и *Saccharomyces boulardii*. Комплекс C1 делује боље од позитивне контроле флуконазола на *Candida albicans* ATCC 10231 бактерији.

**Кључне речи:** паладијум(II) комплекси, молекуларни докинг, интеракције са HSA, цитотоксична активност, антимикробна активност

**Рад је публикован:** Petrović ĐS, Jovičić Milić SS, Đukić MB, Radojević ID, Jurišević MM, Gajović NM, Petrović A, Arsenijević NN, Jovanović IP, Avdović E, Stojković DL, Jevtić VV. Synthesis, characterization, HSA binding, molecular docking, cytotoxicity study, and antimicrobial activity of new palladium(II) complexes with propylenediamine derivatives of phenylalanine. J Inorg Biochem. 2023;246:112283. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2023.112283. (IF=4.336)

**Истраживање је финансирано средствима:** Овај рад је финансијски подржало Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Споразум бр. 451-03-47/2023-01/200122, бр. 451-03-47/2023-01/200378, 451-03-47/ 2023-01/200111), Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (МП02/19, ЈП15/19, ЈП11/18, ЈП02/20).

# CHEMICAL AND BIOLOGICAL RESEARCH OF PALLADIUM(II) COMPLEXES WITH SOME DERIVATIVES OF PHENYLALANINE

**Đorđe S. Petrović<sup>1</sup>**, Sandra S. Jovičić Milić<sup>5</sup>, Maja B. Đukić<sup>1</sup>, Ivana D. Radojević<sup>2</sup>, Milena M. Jurišević<sup>3</sup>,  
Nevena M. Gajović<sup>4</sup>, Anđela Petrović<sup>4</sup>, Nebojša N. Arsenijević<sup>4</sup>, Ivan P. Jovanović<sup>4</sup>, Edina Avdović<sup>5</sup>,  
Danijela Lj. Stojković<sup>5</sup>, Verica V. Jevtić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Kragujevac, Republic of Serbia

<sup>2</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Biology and Ecology, Kragujevac,  
Republic of Serbia

<sup>3</sup>University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences, Department of Clinical pharmacy,  
Kragujevac, Republic of Serbia

<sup>4</sup>University of Kragujevac, Faculty of Medical Sciences,  
Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Kragujevac, Republic of Serbia

<sup>5</sup>University of Kragujevac, Institute for Information Technologies,  
Department of Science, Kragujevac, Republic of Serbia

## ABSTRACT

The four new ligands, propylenediamine derivatives of phenylalanine ( $R_2$ -S,S-pddba·2H-Cl; L1-L4) and their palladium(II) complexes (C1-C4) were synthesized and characterised by elemental microanalysis, infrared, <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. For synthesis and purification of ligands the new method was used. The interactions of new palladium(II) complexes with human serum albumin (HSA) were studied by fluorescence spectroscopy. All investigated compounds can be transported to target cells by binding to HSA, but complex C4 interacts most strongly. Molecular docking simulations were applied to comprehend the binding of the complex to the molecular target of HSA. Obtained results are in good correlations with experimental data regarding binding affinity by HSA. *In vitro* cytotoxicity activities were investigated on four tumor cell lines (mouse mammary (4T1) and colon (CT26), human mammary (MDA-MD-468) and colon (HCT116)) and mouse mesenchymal stem cells (mMSC) as non-tumor control cells. Cytotoxic capacity was determined by MTT test and according to obtained results ligand L4 stands out as the most active and selective compound and as a good candidate for future *in vivo* testing. Further examination of the ligand L4 and corresponding complex C4 led to the conclusion that both induced cell death mainly by apoptosis. Ligand L4 facilitated cycle arrest in G0/G1 phase and decreased proliferative capacity of tumor cells. *In vitro* antimicrobial activity for ligands and corresponding Pd(II) complexes was investigated against eleven microorganisms (eight strains of pathogenic bacteria and three yeast species) using microdilution method and minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum microbicidal concentration (MMC) were determined. The best results (MIC 3.4 and 7.8 µg/mL) were shown by L3 and L4 on *B. subtilis* ATTC 6633 and *Saccharomyces boulardii*. Complex C1 acts better than the positive control fluconazole on *Candida albicans* ATCC 10231.

**Key words:** palladium(II) complexes, molecular docking, HSA binding, cytotoxicity study, antimicrobial activity

**The paper is published:** Petrović ĐS, Jovičić Milić SS, Đukić MB, Radojević ID, Jurišević MM, Gajović NM, Petrović A, Arsenijević NN, Jovanović IP, Avdović E, Stojković DL, Jevtić VV. Synthesis, characterization, HSA binding, molecular docking, cytotoxicity study, and antimicrobial activity of new palladium(II) complexes with propylenediamine derivatives of phenylalanine. *J Inorg Biochem.* 2023;246:112283. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2023.112283. (IF=4.336)

**Funding:** This work was supported by the Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development (Agreements No. 451-03-47/2023-01/200122, No 451-03-47/2023-01/200378, 451-03-47/2023-01/200111), the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (MP02/19, JP15/19, JP11/18, JP02/20).

# АНТИГУМОРСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ БИНУКЛЕАРНИХ ЈЕДИЊЕЊА ГВОЖЂА СА ИЗОЦИЈАНИДНИМ ЛИГАНДОМ

Екатарина Михајловић<sup>1\*</sup>, Сања Јелача<sup>1</sup>, Лоренцо Бјанкалана<sup>2</sup>, Лоренцо Кјаверини<sup>2</sup>, Сања Мија-  
товић<sup>1</sup>, Стефано Закини<sup>3</sup>, Фабио Марчети<sup>2</sup>, Данијела Максимовић-Иванић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Одељење за имунологију, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд; Србија

<sup>2</sup>Одељење за хемију и индустријску хемију, Универзитет у Пизи, Пиза; Италија

<sup>3</sup>Одељење за индустријску хемију „Тозо Монтианари“, Универзитет у Болоњи, Болоња; Италија

## САЖЕТАК

Лекови на бази метала се деценијама користе у терапији рака. Нажалост, њихова ефикасност је обично праћена значајном токсичношћу и због тога постоји стална потреба за развојем лекова са побољшаним безбедносним профилем. Гвожђе је важан елемент са строго регулисаним метаболизмом и игра кључну улогу у многим физиолошким процесима у организму, попут раста и развоја, што је посебно важно када су у питању ћелије рака. Пошто имају повећане потребе за гвожђем у односу на здраве ћелије, може се очекивати да ћелије рака буду осетљивије на третман једињењима гвожђа од здравих ћелија. У овој студији, испитан је цитотоксични ефекат бинуклеарних једињења гвожђа са изоцијанидним лигандом (Xyl-NC, XylNC+DMAP, Ind-NC) на ћелијама рака хуманог порекла: A2780 рак јајника, MCF-7 рак дојке и HCT116 колоректални карцином *in vitro*. Третман испитиваним једињењима је смањивао вијабилитет свих ћелија рака, док су A2780 одабране за даље истраживање као најосетљивије. Показало се да третман ћелија рака јајника бинуклеарним једињењима гвожђа са изоцијанидним лигандима индукује фероптозу, ћелијску смрт изазвану липидном пероксидацијом зависном од гвожђа. Изненађујуће, фероптоза је праћена инхибицијом продукције радикала који узрокују оксидативни и нитрозативни стрес - водоник пероксида и пероксинитрита. Поред тога, показало се да третман свим једињењима узрокује аутофагију ћелија рака јајника. Третман у комбинацији са инхибитором аутофагије 3-метил аденином додатно смањује вијабилитет ћелија, што сугерише да детектована аутофагија има цитопротективну улогу. Такође, третман испитиваним једињењима значајно је инхибирао пролиферацију ћелија рака јајника. Резултати добијени у овој студији указују да би бинуклеарна једињења гвожђа са изоцијанидним лигандима могла постати обећавајући агенси за лечење рака и стога захтевају додатну пажњу и детаљнија биолошка истраживања.

**Кључне речи:** рак јајника, једињења гвожђа, фероптоза, цитопротективна аутофагија

**Истраживање је финансирано средствима:** Истраживање је финансирано средствима Министарства науке, технолошког развоја и иновација, бр. 451-03-47/2023-01/200007.

# ANTITUMOR POTENTIAL OF DIIRON COMPOUNDS WITH ISOCYANIDE LIGANDS

Ekatarina Mihajlović<sup>1</sup>, Sanja Jelača<sup>1</sup>, Lorenzo Biancalana<sup>2</sup>, Lorenzo Chiaverini<sup>2</sup>, Sanja Mijatović<sup>1</sup>, Stefano Zacchini<sup>3</sup>, Fabio Marchetti<sup>2</sup>, Danijela Maksimović-Ivanić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Immunology, Institute for Biological Research "Siniša Stanković" – National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade; Serbia*

<sup>2</sup>*Department of Chemistry and Industrial Chemistry, University of Pisa, Pisa; Italy*

<sup>3</sup>*Department of Industrial Chemistry "Toso Montanari", University of Bologna, Bologna; Italy*

## ABSTRACT

Metal-based drugs have been used as cancer therapeutics for decades. Unfortunately, their efficacy usually comes with significant toxicity and there is a constant need for the development of drugs with improved safety profile. Iron is an important element with tightly regulated metabolism and plays crucial role in many physiological processes in the body, like growth and development, which is particularly important for cancer cells. Since they have increased iron demands compared to healthy cells, it is expected that they could be more susceptible to treatment with iron compounds than healthy cells. In the present study, the cytotoxic effect of diiron compounds with isocyanide ligands (Xyl-NC, XylNC+DMAP, Ind-NC) was investigated on human cancer cell lines: A2780 ovarian cancer, MCF-7 breast cancer, and HCT116 colorectal carcinoma *in vitro*. Treatment with experimental compounds decreased the viability of all cancer cell lines, while A2780 was selected for further investigation as the most sensitive one. It was shown that treatment of A2780 cells with diiron compounds with isocyanide ligands caused ferroptosis, cell death induced by iron-dependent lipid peroxidation. Surprisingly, ferroptosis was accompanied by the scavenging of radicals causing oxidative and nitrosative stress - hydrogen peroxide and peroxytrite. Additionally, all 3 compounds induced autophagy in A2780 cells. Co-treatment with the autophagy inhibitor 3-methyl adenine further decreased cell viability, suggesting that detected autophagy had cytoprotective role. Furthermore, treatment with investigated compounds significantly inhibited the proliferation of A2780 cells. Results obtained in this study indicate that diiron compounds with isocyanide ligands could become promising agents for cancer treatment and therefore, require additional attention and further biological assessment.

**Key words:** ovarian cancer, iron compounds, ferroptosis, cytoprotective autophagy

**Funding:** This study was supported by the Ministry of Science, Technological Development and Innovation of the Republic of Serbia, Grant No. 451-03-47/2023-01/200007.

# УТИЦАЈ МОНТЕЛУКАСТА НА СПЕЦИЈАЦИЈУ ЕСЕНЦИЈАЛНИХ ЈОНА МЕТАЛА У КРВНОЈ ПЛАЗМИ

Иван Јаковљевић<sup>1</sup>, Љубинка Јоксовић<sup>1</sup>, Невена Михаиловић<sup>1</sup>, Марија Јеремић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Универзитет у Крајеву, Природно-математички факултет,  
Институт за хемију, Крајевац, Србија

## САЖЕТАК

У овом раду испитиван је утицај лека Монтелукаст, широко коришћеног антагонистика леукотриенских рецептора који се претежно примењује у клиничком третману астме, на специјацију есенцијалних јона метала у крвној плазми.

Како би појаснили утицај Монтелукаста на есенцијалне јоне метала у крвној плазми, користимо кључни параметар познат као плазма мобилизациони индекс (ПМИ). Овај индекс се може користити за описивање снаге Монтелукаста да мобилише јоне метала у крвној плазми и дефинисан је као однос укупне концентрације свих врста молекула мале молекулске масе везане за јоне метала у присуству и одсуству егзогеног унетог лиганда.

Наш модел крвне плазме је вишефазни модел који укључује 10 јона метала, 43 лиганда и преко 6300 метал-лиганд комплекса. Како би прецизност била на највишем нивоу, извори компонената и концентрација су преузети из пажљиво прегледаних научних публикација као и Geigy табела. Константе стабилности метал-лиганд комплекса преузете су из поузданих база података укључујући JESS, IUPAC и NIST базе података а где је било потребно константе стабилности су прилагођене физиолошким условима.

Резултати наше студије откривају интригантне увиде. Монтелукаст испољава минималан ефекат на дистрибуцију јона калцијума и магнезијума, посебно у нижим концентрацијама. Међутим, његов утицај постаје све израженији како се концентрације повећавају, што доводи до значајног смањења њихових концентрација. Монтелукаст такође има благи утицај на специјацију јона мангана, док доследно смањује концентрацију јона цинка, са изузетком једног специфичног типа (ZnCysCit) чија се концентрација повећава за 11 %. Важно је да није примећен никакав приметан утицај Монтелукаста на дистрибуцију јона гвожђа.

У закључку, свеобухватна анализа спроведена у овој студији сугерише да употреба Монтелукаста остаје безбедна у погледу метаболизма есенцијалних металних јона, посебно у контексту његове клиничке примене у лечењу астме.

**Кључне речи:** монтелукаст, специјација, крвна плазма

**Истраживање је финансирано средствима:** Овај рад је финансијски подржало Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (Уговор број. 451-03-47/2023-01/200122).

# INFLUENCE OF MONTELUKAST ON SPECIATION OF ESSENTIAL METAL IONS IN BLOOD PLASMA

Ivan Jakovljevic<sup>1</sup>, Ljubinka Joksovic<sup>1</sup>, Nevena Mihailovic<sup>1</sup>, Marija Jeremic<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Kragujevac, Republic of Serbia

## ABSTRACT

This study delves into the impact of Montelukast, a widely-used leukotriene receptor antagonist primarily employed in the clinical management of asthma, on the speciation of essential metal ions in blood plasma.

We assess Montelukast's ability to compete with plasma metal ions as well as other low molecular weight (LMM) ligands using a parameter known as the plasma mobilizing index (PMI). PMI is defined as the ratio between the total concentration of LMM-metal species in the presence and absence of this exogenous ligand in blood plasma.

In the development of our computer model for blood plasma, we have taken significant steps to enhance the accuracy and comprehensiveness of the model. This includes incorporating a multi-phase model encompassing 10 different metals, 43 ligands, and over 6300 metal-ligand complexes. The total concentrations of all components have been meticulously sourced from a combination of peer-reviewed publications and authoritative Geigy tables. Nearly all stability constants pertaining to binary and ternary complexes have been obtained from well-regarded databases such as JESS, IUPAC, and NIST. In cases where necessary, these constants have been adapted to match physiological conditions.

The findings from our study reveal intriguing insights. Montelukast exhibits a minimal effect on the distribution of calcium and magnesium ions, particularly at lower concentrations. However, its impact becomes more pronounced as concentrations increase, leading to a significant reduction in their presence. Montelukast also exerts a slight influence on the distribution of manganese ions, while consistently decreasing the concentration of zinc ions, with one specific type being an exception (ZnCysCit). Importantly, no discernible impact of Montelukast on the distribution of iron ions is observed.

In conclusion, the comprehensive analysis conducted in this study suggests that Montelukast's use remains safe concerning the metabolism of essential metal ions, especially within the context of its clinical applications in asthma management.

**Key words:** Montelukast, speciation, blood plasma

**Funding:** This work has been financially supported by the Serbian Ministry of Education, Science and Technological Development of Serbia (Agreement No. 451-03-47/2023-01/200122).

# УЛОГА IL-33 НА СТЕПЕН ОШТЕЋЕЊА СЛУЗНИЦЕ ЖЕЛУЦА У ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОМ МОДЕЛУ АКУТНОГ ГАСТРИТИСА

Ирфан Ђоровић<sup>1,2</sup>, Јелена Пантић<sup>1</sup>, Гордана Д. Радосављевић<sup>1</sup>, Небојша Арсенијевић<sup>1</sup>,  
Бојана Симоновић Марковић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центар за молекуларну медицину и исцртавање мајичних ћелија,  
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајеву  
<sup>2</sup>Општа болница, Нови Пазар

## САЖЕТАК

Оштећење слузнице желуца представља чест гастроинтестинални поремећај, који настаје услед дисбаланса између агресивних и одбрамбених фактора слузнице желуца. Конзумација алкохола једна је од водећих окидача за развој акутног оштећења желуца, што је последица директног прекида епителног интегритета слузнице и индиректног оштећења изазваног регрутовањем леукоцита и оксидативним стресом. Прекомерни унос алкохола је праћен снажним инфламацијским имунским одговором, што за крајњи исход има настанак акутног гастритиса. У овој студији испитиван је утицај IL-33 на степен оштећења слузнице желуца у акутном гастритису изазваном алкохолом.

У истраживању су коришћени ST2 дефицијентни и BALBc мишеви чистог соја, којима је оралном гаважом апликован 80% алкохол. У циљу процене акутног оштећења желуца анализирани су макроскопске промене слузнице желуца и рађена је квантитативна хистолошка евалуација ткивних промена у желуцу мишева.

Делеција гена за ST2 рецептор је значајно смањила величину лезија слузнице желуца. Уз то, у поређењу са WT мишевима, укупна површина лезија ST2<sup>-/-</sup> животиња је била значајно мања, праћена и мањим хистолошким скором. У складу са овим налазом, уочено је знатно опсежније оштећење ткива желуца у WT мишева са значајно већом инфилтрацијом инфламацијских ћелија, едемом мукозе и присуством хеморагије. Овај токсични ефекат алкохола на слузницу желуца је знатно умањен у ST2 дефицијентним BALBc животињама.

Добијени налаз указује да делеција гена за рецептор IL-33 смањује степен оштећења слузнице желуца у акутном гастритису изазваном алкохолом.

**Кључне речи:** IL-33, акутно оштећење желуца, инфламација, алкохол

# THE ROLE OF IL-33 ON THE DEGREE OF GASTRIC MUCOSAL DAMAGE IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF ACUTE GASTRITIS

Irfan Corovic<sup>1,2</sup>, Jelena Pantic<sup>1</sup>, Gordana D Radosavljevic<sup>1</sup>, Nebojsa Arsenijevic<sup>1</sup>,  
Bojana Simovic Markovic<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences,  
University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>2</sup>General Hospital of Novi Pazar, Novi Pazar, Serbia

## ABSTRACT

Gastric mucosal injury represents a common gastrointestinal disorder resulting from an imbalance between the aggressive and protective factors of the gastric mucosa. Alcohol consumption is one of the leading triggers for the development of acute gastric injury, which is a consequence of direct disruption of the epithelial integrity and indirect damage caused by the recruitment of leukocytes and oxidative stress. Excessive alcohol intake is accompanied by a strong inflammatory immune response, ultimately leading to the development of acute gastritis. In this study, we evaluated the role of IL-33 on the degree of gastric mucosal damage in alcohol-induced acute gastritis.

Acute gastric injury was induced with 80% alcohol via oral gavage using ST2-deficient and pure-strain BALBc mice. To assess acute gastric injury, macroscopic gastric changes were analyzed, and a quantitative histological evaluation of tissue alterations in the mouse stomach was performed.

Deletion of the gene for the ST2 receptor significantly reduced the size of lesions in the gastric mucosa. Furthermore, compared to wild-type (WT) mice, the total lesion area in ST2<sup>-/-</sup> animals was notably smaller, accompanied by a reduced histological score. In line with this finding, considerably more extensive gastric tissue damage was observed in WT mice, with a significantly greater infiltration of inflammatory cells, mucosal edema, and the presence of hemorrhage. This toxic effect of alcohol on the gastric mucosa was substantially diminished in ST2-deficient BALBc animals. The obtained findings indicate that the genetic deletion of the IL-33 receptor reduces the degree of gastric mucosal damage in alcohol-induced acute gastritis.

**Key words:** IL-33, acute gastric injury, inflammation, alcohol



# ЦИТОТОКСИЧНОСТ БИНУКЛЕАРНИХ КОМПЛЕКСА БАКРА(II) СА S-ИЗОАЛКИЛ ДЕРИВАТИМА ТИОСАЛИЦИЛНЕ КИСЕЛИНЕ

Јелена Д Димитријевић<sup>1</sup>, Наталија Соловјова<sup>2</sup>, Андриана М Букоњић<sup>3</sup>, Душан Љ Томовић<sup>3</sup>,  
Александар Арсенијевић<sup>1,4</sup>, Небојша Н Арсенијевић<sup>4,5</sup>, Татјана Кањевац<sup>6</sup>,  
Марија З Миловановић<sup>1,4</sup>, Јелена З Миловановић<sup>1,7</sup>, Гордана П Радић<sup>3</sup>,

<sup>1</sup>Центар за смањење штетности биолошких и хемијских хазарда,  
Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Србија, Крајевац, Србија.

<sup>2</sup>Академија примењених студија Београд, Висока здравствена школа, Београд, Србија.

<sup>3</sup>Одсек за фармацију, Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Крајевац, Србија.

<sup>4</sup>Катедра за микробиологију и имунологију,

Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Крајевац, Србија.

<sup>5</sup>Центар за молекулу медицину и израживање мајичних ћелија,

Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Крајевац, Србија.

<sup>6</sup>Институт за ситоматологију, Крајевац, Србија

<sup>7</sup>Катедра за хистологију и ембриологију,

Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Крајевац, Србија

## САЖЕТАК

Бројни нежељени ефекти хемотерапеутика, деривата платине, условили су истраживања и дизајн нових терапеутика у којима је платина замењеном другим прелазним металом. У овој студији истраживали смо антитуморске ефекте претходно карактерисаних бинуклеарних комплекса бакра(II) са S-изоалкил дериватима тиосалицилне киселине у моделу карцинома колона. Сва три комплекса бакра(II) су показала умерено, али селективно цитотоксично дејство на ћелијама карцинома колона *in vitro*. Бинуклеарни комплекс бакра(II) са S-изоамил дериватом тиосалицилне киселине (С3) испољио је најјачи цитотоксички ефекат на ћелијама карцинома колона миша, али ипак слабији у поређењу са цисплатином. С3 је такође показао најселективнији цитотоксички ефекат, са бољом селективношћу у поређењу са цисплатином. С3 је зауставио ћелије карцинома колона у G2/M фази ћелијског циклуса и изазвао умерену апоптозу ових ћелија. Међутим, антитуморска активност С3 *in vivo* у моделу хетеротопског карцинома колона мишева била је значајно већа у поређењу са цисплатином. С3 је смањив експресију инфламацијских молекула про-IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , ICAM-1 и VCAM-1 у ткиву примарног мишјег хетеротопског карцинома колона, што је било праћено значајно смањеним растом тумора и мањим бројем метастаза у плућима и јетри.

**Кључне речи:** бинуклеарни комплекси бакра(II); карцином колона; СТ26 ћелије; цитотоксичност; антитуморска активност; инфламација

**Рад је публикован:** Dimitrijević JD, Solovjova N, Bukonjić AM, Tomović DL, Milinković M, Čaković A, Bogojeski J, Ratković ZR, Janjić GV, Rakić AA, Arsenijević NN, Milovanović MZ, Milovanović JZ,

Radić GP, Jevtić VV. Docking Studies, Cytotoxicity Evaluation and Interactions of Binuclear Copper(II) Complexes with S-Isoalkyl Derivatives of Thiosalicylic Acid with Some Relevant Biomolecules. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 6;24(15):12504. doi: 10.3390/ijms241512504. (IF=5.6)

**Истраживање је финансирано средствима:** Истраживање су финансирани Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (No. 451-03-47/2023-01/200122, 451-03-47/2023-01/200026, 451-03-47/2023-01/200146, and 451-03-47/2023-01/200111), Фонда за науку Републике Србије (the Serbian Science and Diaspora Collaboration Program: Project acronym: TransMeCo), и Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (MP 02/19, JP 18/19, JP 19/19).

# CYTOTOXICITY OF BINUCLEAR COPPER(II) COMPLEXES WITH S-ISOALKYL DERIVATIVES OF THIOSALICYLIC ACID

Jelena D Dimitrijević<sup>1</sup>, Natalija Solovjova<sup>2</sup>, Andriana M Bukonjić<sup>3</sup>, Dušan Lj Tomović<sup>3</sup>, Aleksandar Arsenijević<sup>1,4</sup>, Nebojsa N Arsenijević<sup>4,5</sup>, Tatjana Kanjevac<sup>6</sup>, Marija Z Milovanovic<sup>1,4</sup>, Jelena Z Milovanovic<sup>1,7</sup>, Gordana P Radić<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Center for Harm Reduction of Biological and Chemical Hazards, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia, Kragujevac, Serbia.*

<sup>2</sup>*Academy of Applied Studies Belgrade, The College of Health Science, Belgrade, Serbia.*

<sup>3</sup>*Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia.*

<sup>4</sup>*Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia.*

<sup>5</sup>*Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia.*

<sup>6</sup>*Institute of Dentistry, Kragujevac, Serbia*

<sup>7</sup>*Department of Histology and Embryology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

## ABSTRACT

The numerous side effects of platinum based chemotherapy has led to the design of new therapeutics with platinum replaced by another transition metal. Here, we investigated the antitumor effects, in a colon carcinoma model of previously reported copper(II) complexes containing S-isoalkyl derivatives of salicylic acid. All three copper(II) complexes exhibited a moderate, but selective cytotoxic effect toward colon cancer cells in vitro. Binuclear complex of copper(II) with S-isoamyl derivative of thiosalicylic acid (C3) showed the highest cytotoxic effect toward murine colon cancer cells, but lower than cisplatin. C3 also exhibited the most selective cytotoxic effect, with better selectivity compared to cisplatin. C3 arrested colon cancer cells in the G2/M phase of the cell cycle and induced moderate apoptosis. However, antitumor activity of C3 in vivo in murine heterotopic colon cancer model was significantly higher compared to cisplatin. C3 reduced the expression of inflammatory molecules pro-IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , ICAM-1, and VCAM-1 in the tissue of primary heterotopic murine colon cancer, which was accompanied by a significantly reduced tumor growth and metastases in the lung and liver.

**Key words:** binuclear copper(II) complexes; colon cancer; CT26 cells; cytotoxicity; antitumor activity; inflammation

**The paper is published:** Dimitrijević JD, Solovjova N, Bukonjić AM, Tomović DL, Milinkovic M, Caković A, Bogojeski J, Ratković ZR, Janjić GV, Rakić AA, Arsenijević NN, Milovanovic MZ, Milovanovic JZ, Radić GP, Jevtić VV. Docking Studies, Cytotoxicity Evaluation and Interactions of Binuclear Copper(II) Complexes with S-Isoalkyl Derivatives of Thiosalicylic Acid with Some Relevant Biomolecules. *Int J Mol Sci.* 2023 Aug 6;24(15):12504. doi: 10.3390/ijms241512504. (IF=5.6)

**Funding:** The authors gratefully acknowledge the financial support from the Ministry of Science, Technological Development and Innovation of the Republic of Serbia (No. 451-03-47/2023-01/200122, 451-03-47/2023-01/200026, 451-03-47/2023-01/200146, and 451-03-47/2023-01/200111), Science Fund of the Republic of Serbia (the Serbian Science and Diaspora Collaboration Program: Project acronym: TransMeCo), and The Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (MP 02/19, JP 18/19, JP 19/19).

# АНТИПРОЛИФЕРАТИВНА АКТИВНОСТ ЈЕДИЊЕЊА СА ФУРО-ФУРАНОНСКИМ СЕГМЕНТОМ

Јована Француз,<sup>1</sup> Сања Ђокић,<sup>1</sup> Јелена Кесић,<sup>1</sup> Ивана Ковачевић,<sup>1</sup> Горан Бенедковић,<sup>1</sup>  
Весна Којић,<sup>2</sup> Мирјана Попсавин,<sup>1</sup> Велимир Попсавин<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Универзитет у Новом Саду – Природно-математички факултет, Нови Сад, Србија

<sup>2</sup> Универзитет у Новом Саду – Медицински факултет, Институт за онкологију Војводине,  
Сремска Каменица, Србија

<sup>3</sup> Српска академија наука и уметности, Београд, Србија

## САЖЕТАК

Постоји велик број природних производа који у својој структури поседују фу-ро-фуранонски бициклични систем прстенова. Овај сегмент често је одговоран за биолошку активност природних производа. Активности које су до сада откривене су изузетно разноврсне и потентне. У овом раду ћемо приказати серију фу-ро-фуранонских лактона и њихову антипролиферативну активност. Ова серија је добијена синтезом полазећи од моносахарида одговарајуће стереохемије. Основна разлика у структурама ових фу-ро-фуранонских лактона је у њиховој стереохемији и то на положајевима C-3, C-4, C-5 и/или C-6. Антипролиферативна активност ових једињења одређена је МТТ тестом. Једињења су тестирана на одабране хумане туморске ћелијске културе, као и на једну здраву ћелијску линију (MRC-5). SAR анализом успостављена је корелација између структуре и биолошке активности и откривено је који стереохемијски односи су значајни за антипролиферативну активност.

**Кључне речи:** антипролиферативна активност, цитотоксични лактони, стереохемија, SAR анализа

**Истраживање је финансирано средствима:** Научни програм Министарства науке, технолошког развоја и иновација (број програма: 451-03-47/2023-01/200125), као и делом из научног пројекта Српске академије науке и уметности (број пројекта: F-130).

# ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITIES OF COMPOUNDS WITH FURO-FURANONE SCAFFOLD

Jovana Francuz<sup>1</sup>, **Sanja Đokić**<sup>1</sup>, Jelena Kesić,<sup>1</sup> Ivana Kovačević,<sup>1</sup> Goran Benedeković,<sup>1</sup>  
Vesna Kojić<sup>2</sup>, Mirjana Popsavin<sup>1</sup>, Velimir Popsavin<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*University of Novi Sad – Faculty of Sciences, Novi Sad, Serbia*

<sup>2</sup>*University of Novi Sad – Medical Faculty, Oncology Institute of Vojvodina, Sremska Kamenica, Serbia*

<sup>3</sup>*Serbian Academy of Sciences and Arts, Belgrade, Serbia*

## ABSTRACT

There are a large number of natural products that have a furo-furanone bicyclic ring system in their structure. This scaffold is often responsible for biological activity. The activities that have been discovered so far are extremely diverse and potent. Herein, we want to report a series of furo-furanone lactones and their antiproliferative activity. This series was obtained by synthesis starting from monosaccharides with appropriate stereochemistry. The main difference in the structures of these furo-furanone lactones is in their stereochemistry at the C-3, C-4, C-5 and/or C-6 positions. The antiproliferative activity of these compounds was determined by the MTT test. The compounds were tested on selected human tumor cell cultures as well as on one healthy cell line (MRC-5). SAR analysis established a correlation between structure and biological activity and revealed which stereochemical relationships are significant for antiproliferative activity.

**Key words:** binuclear copper(II) complexes; colon cancer; CT26 cells; cytotoxicity; antitumor activity; inflammation

**Funding:** Research project from the Ministry of Science, Technological Development and Innovation (Grant No. 451-03-47/2023-01/200125), and (in part) by a research project from the Serbian Academy of Sciences and Arts (Grant No. F-130).

# ИНДУКЦИЈА АПОПТОЗЕ НЕЛА ЋЕЛИЈСКЕ ЛИНИЈЕ СТЕРОИДНИМ 16,17-СЕКО-16,17А-ДИНИТРИЛИМА

Лидија Алексић<sup>1</sup>, Андреа Николић<sup>2</sup>, Весна Којић<sup>1</sup>, Марија Сакач<sup>2</sup>, Сузана Јовановић-Шанта<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Универзитет у Новом Саду, Медицински факултет,

Институт за онкологију Војводине, Сремска Каменица, Србија

<sup>2</sup>Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет,

Департаман за хемију, биохемију и заштитну животиње средине, Нови Сад, Србија

## САЖЕТАК

Стероиди су добри кандидати за развој лекова, захваљујући њиховој ниској општој токсичности и могућим структурним модификацијама, повезаним са променом њихове активности. Синтетисано је више 16,17-секоандрост-4-ен-16,17а-динитрила, укључујући 6-оксо и 6-оксиимино деривате, и испитана њихова антипролиферативна активност. Ова истраживања су настављена покушајима различите синтетичке стратегије и евалуације механизма антиканцерског деловања. Тестирани секодинитрили су испољили цитотоксични ефекат према HeLa ћелијама карцинома грлића материце, одабраном за модел систем, са субмикромоларним до моларним вредностима  $IC_{50}$ , при чему су 6-супституисани деривати били ефикаснији. После 72-часовног третмана ћелија еквитоксичним концентрацијама испитиваних једињења, једнаким  $IC_{50}$  вредностима испитиваних једињења, механизам њиховог деловања је проучаван применом проточне цитометрије и специфичних флуоресцентних боја. Уочене су извесне промене у G0/G1 и G2/M фазама мировања, као и промене у мембранском потенцијалу митохондрија, док је најизраженији ефекат био индукција апоптозе. Укупна апотоза била је у опсегу 50,72-58,31% у свим узорцима третираним секостероидима, у поређењу са 7.44% у контролном узорку. Процент мртвих ћелија, укључујући апоптотичне и некротичне, био је у опсегу 55,24-65,34%, у поређењу са 10,68% у контролном узорку. Веома важна карактеристика ових једињења је селективност према ћелијама канцера, без детективног ефекта на здраве ћелије MRC-5 линије, што их сврстава у водећа једињења у развоју лекова против канцера ткива зависних од стероидних хормона.

**Кључне речи:** секостероиди; антиканцерски ефеката; ћелијски циклус; потенцијал митохондријалне мембране; проапоптотички ефекат; проточна цитометрија

**Рад је публикован:** Nikolić AR, Kuzminac IZ, Jovanović-Šanta SS, Jakimov DS, Aleksić LD, Sakač MN. Anticancer activity of novel steroidal 6-substituted 4-en-3-one D-seco dinitriles. Steroids. 2018 Jul;135:101-107. doi: 10.1016/j.steroids.2018.03.009. (IF 2.7)

**Истраживање је финансирано средствима:** Истраживања је финансирало Министарство науке, технолошког развоја и иновација Републике Србије (Ев.бр. 451-03-47/2023-01/200125).

# APOPTOSIS INDUCTION IN HELA CERVICAL CANCER CELL LINE BY STEROIDAL 16,17-SECO-16,17A-DINITRILES

Lidija Aleksić<sup>1</sup>, Andrea Nikolić<sup>2</sup>, Vesna Kojić<sup>1</sup>, Marija Sakač<sup>2</sup>, Suzana Jovanović-Šanta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Oncology Institute of Vojvodina, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Sremska Kamenica, Serbia*

<sup>2</sup>*University of Novi Sad, Faculty of Sciences, Department of Chemistry,  
Biochemistry and Environmental Protection, Novi Sad, Serbia*

## ABSTRACT

Steroids are good candidates for drug development, thanks to their low general toxicity and possible structure modifications, connected with change of their activity. Several 16,17-secoandrost-4-ene-16,17a-dinitrile compounds were synthesized and screened for anticancer effect, including 6-oxo and 6-hydroxyimino compounds. This research is continued with the attempts for different synthetic strategy and evaluation of anticancer effect mechanism. Tested secodinitriles expressed cytotoxic effect on HeLa cervix cancer cells, with submicromolar to molar  $IC_{50}$  values, where 6-substituted derivatives were more effective. After 72 h treatment with equitoxic concentrations equal  $IC_{50}$  values of test compounds the mechanism of this effect was studied using flow cytometry and specific fluorescent dyes. Modest change in both G0/G1 and G2/M resting phases and change in mitochondrial membrane potential were noticed, while the most pronounced effect was apoptosis induction. Total apoptosis was in range 50.72-58.31 % in all samples of cells treated with secodinitriles, compared to 7.44 % in control samples. Total percent of dead cells, including both apoptotic and necrotic, ranged from 55.24 to 65.34 %, compared to 10.68 % in control. Selectivity towards cancer cells is very important feature of these compounds as leading compounds in the drug development for the treatment of cancers of steroid hormone-dependent tissues.

**Key words:** secosteroids; anticancer effect; cell cycle; mitochondrial membrane potential; proapoptotic effect; flow cytometry

**The paper is published:** Nikolić AR, Kuzminac IZ, Jovanović-Šanta SS, Jakimov DS, Aleksić LD, Sakač MN. Anticancer activity of novel steroidal 6-substituted 4-en-3-one D-seco dinitriles. *Steroids*. 2018 Jul;135:101-107. doi: 10.1016/j.steroids.2018.03.009. (IF 2.7)

**Funding:** The authors acknowledge financial support of the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Grant No. 451-03-68/2022-14/200125).

# ПИКЛИДЕНОЗОН, СЕЛЕКТИВНИ АГОНИСТ А3 РЕЦЕПТОРА, МОДУЛИРА ФУНКЦИЈУ И ФЕНОТИП НЕУТРОФИЛА: УВИДИ ИЗ *IN VITRO* СТУДИЈЕ

Љиљана Козић<sup>1</sup>, Вања Малиш<sup>1</sup>, Марија Дракул<sup>1</sup>, Сара Ракочевић<sup>1</sup>, Даринка Поповић<sup>1</sup>,  
Анђела Мандић<sup>1</sup>, Дејан Бокоњић<sup>1</sup>, Миодраг Чолић<sup>1</sup>, Душан Михајловић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Универзитет у Источној Сарајеву, Медицински факултет Фоча, БиХ-РС

## САЖЕТАК

Пиклиденозон (CF101, IB МЕСА), селективни агонист А3 рецептора, се клинички истражују у циљу лијечења псоријазе и реуматоидног артритиса. Постојећи докази сугеришу о антиинфламаторним и имуномодулаторним својствима Пиклиденозона, међутим његово дејство на хумане неутрофилне гранулоците још увијек је непознато. Циљ ове студије је био да се истражи ефекат Пиклиденозона на фенотипске и функционалне карактеристике хуманих неутрофилних гранулоцита периферне крви, *in vitro*. Неутрофилни гранулоцити су изоловани из крви шест здравих даваоца. Изоловане ћелије су третиране нетоксичним концентрацијама Пиклиденозона (1000, 500, 250 nM/ml), прије него што су стимулисане стимулисима попут *phorbol myristate acetate* (PMA), *N-formyl-L-methionyl-L-leucyl-L-phenylalanine* (fMLP), *calcium ionophore* (CAI), *opsonized zymosan* (opZY), *tumor necrosis factor alpha* (TNF- $\alpha$ ) или комбинације TNF- $\alpha$  и fMLP-а. Фенотипске карактеристике су одређене проточном цитометријом. Производња реактивних кисеоничких врста (РОС) је мјерена методом хемилуминисценције помоћу луминола, а интензитет НЕТ-озе методом флуоресценце са *Sytox green*-ом. Производња НЕ (неутрофилне еластазе) одређена је ELISA-ом. Да бисмо испитали да ли А3 рецептор посредује у ефекту Пиклиденозона на продукцију РОС-а и интензитет НЕТ-озе, коришћен је предтретман са антагонистом А3 рецептора, MRS 1220. Наши резултати су показали да Пиклиденозон, у свим примјењеним дозама, инхибира производњу РОС-а у fMLP и PMA стимулираним неутрофилима. Ефекат инхибиције је поништен претходним третманом са MRS 1220 код fMLP-ом стимулираних неутрофила. Све тестиране дозе Пиклиденозона су супримирали производњу нетова у PMA и CAI стимулираним неутрофилима. Предтретман са антагонистом, MRS 1220 је поништио ефекат инхибиције и код PMA и CAI стимулираних неутрофила. Пиклиденозон је смањивао продукцију НЕ нестимулисаних, opZy, fMLP и TNF- $\alpha$  стимулираних ћелија. Такође, смањивао је експресију CD11b, CD18, и CD32 у TNF $\alpha$ /fMLP-стимулисаним ћелијама, али није промијенио експресију наведених маркера код нестимулисаних и fMLP-ом стимулираних ћелија. Резултати сугеришу да Пиклиденозон модулира функционалне и фенотипске карактеристике хуманих неутрофилних гранулоцита периферне крви, *in vitro*, а инхибиција производње РОС-а И НЕТ-озе посредована је А3 рецепторима.

**Кључне речи:** пиклиденозон, неутрофилни гранулоцити, нетоза, оксидативни прасак, фенотип.

# PICLIDENOSON, SELECTIVE AGONIST OF THE A3 RECEPTOR, MODULATES NEUTROPHIL FUNCTION AND PHENOTYPE: INSIGHTS FROM AN *IN VITRO* STUDY

Ljiljana Kozić<sup>1</sup>, Vanja Mališ<sup>1</sup>, Marija Drakul<sup>1</sup>, Sara Rakočević<sup>1</sup>, Darinka Popović<sup>1</sup>, Anđela Mandić<sup>1</sup>, Dejan Bokonjić<sup>1</sup>, Miodrag Čolić<sup>1</sup>, Dušan Mihajlović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Faculty of Medicine Foca, University of East Sarajevo, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina*

## ABSTRACT

Steroids are good candidates for drug development, thanks to their low general toxicity and possible structure modifications, connected with change of their activity. Several 16,17-secoandrost-4-ene-16,17a-dinitrile compounds were synthesized and screened for anticancer effect, including 6-oxo and 6-hydroxyimino compounds. This research is continued with the attempts for different synthetic strategy and evaluation of anticancer effect mechanism. Tested secodinitriles expressed cytotoxic effect on HeLa cervix cancer cells, with submicromolar to molar  $IC_{50}$  values, where 6-substituted derivatives were more effective. After 72 h treatment with equitoxic concentrations equal  $IC_{50}$  values of test compounds the mechanism of this effect was studied using flow cytometry and specific fluorescent dyes. Modest change in both G0/G1 and G2/M resting phases and change in mitochondrial membrane potential were noticed, while the most pronounced effect was apoptosis induction. Total apoptosis was in range 50.72-58.31 % in all samples of cells treated with secodinitriles, compared to 7.44 % in control samples. Total percent of dead cells, including both apoptotic and necrotic, ranged from 55.24 to 65.34 %, compared to 10.68 % in control. Selectivity towards cancer cells is very important feature of these compounds as leading compounds in the drug development for the treatment of cancers of steroid hormone-dependent tissues.

**Key words:** piclidenoson, neutrophils granulocytes, NETosis, oxidative burst, phenotype

# IN VITRO АНТИГЕНОТОКСИЧНОСТ НОВИХ ХЕТЕРОМЕТАЛНИХ ДИНУКЛЕАРНИХ КОМПЛЕКСА

Мајда Коленовић Серезлић,<sup>1</sup> Тања В. Солдатовић,<sup>1</sup> Биљана Шмит,<sup>2</sup> Сања Љ. Матић<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Департаман за природно-математичке науке,

Државни универзитет у Новом Пазару, Нови Пазар, Србија

<sup>2</sup>Институт за информационе технологије, Универзитет у Крајеву, Крајевац, Србија

## САЖЕТАК

Четири нова динуклеарна комплекса,  $[\{cis\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipyridyl})\text{ZnCl}(\text{terpy}\text{-Cl})\}](\text{ClO}_4)_2$ ,  $[\{trans\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-}4,4'\text{-bipyridyl})\text{ZnCl}(\text{terpy}\text{-Cl})\}](\text{ClO}_4)_2$ ,  $[\{cis\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-pyrazine})\text{ZnCl}(\text{terpy}\text{-Cl})\}](\text{ClO}_4)_2$  и  $[\{trans\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-pyrazine})\text{ZnCl}(\text{terpy}\text{-Cl})\}](\text{ClO}_4)_2$ , изведена из моонуклеарног  $[\text{ZnCl}(\text{terpy}\text{-Cl})]$ , (где је  $\text{terpy}\text{-Cl} = 4'\text{-хлоро-}2,2':6',2''\text{-терпиридин}$ ) су синтетизована и окарактерисана.

Могућа ДНК-протективна дејства ових комплекса у различитим концентрацијама (25, 50, 100, 200 и 400  $\mu\text{g/ml}$ ) против оштећења ДНК изазвана хидроксилним и пероксил радикалима су одређена коришћењем два *in vitro* антиоксидативна теста. У поређењу са негативним и позитивним контролама, сви комплекси су показали значајне ДНК-заштитне ефекте у испитиваним концентрацијама, што указује на способност уклањања хидроксилних и пероксил радикала генерисаних помоћу  $\text{FeSO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  и ААРН.

У нашој претходној студији четири динуклеарна комплекса сличне структуре, аналози ових комплекса, али без хлоридног супституента у терпи лиганду, такође су коришћени за процену антигенотоксичности. Само  $[\{cis\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-pyrazine})\text{ZnCl}(\text{terpy})\}](\text{ClO}_4)_2$  је имао значајну дозно зависну способност да инхибира пероксилне као и хидроксилне радикале што је у складу са тренутном студијом и антигенотоксичношћу испитаног комплекса  $[\{cis\text{-PtCl}(\text{NH}_3)_2(\mu\text{-pyrazine})\text{ZnCl}(\text{terpy}\text{-Cl})\}](\text{ClO}_4)_2$ . Значајан ДНК заштитни потенцијал против хидроксилних и пероксил радикала такође је добијен и за преостала три тестирана динуклеарна комплекса. Присуство хлорида у структури новосинтетизованих комплекса повећава електронску густину на Zn центру и на тај начин смањује његову нуклеофилност, што би могло бити објашњење њиховог понашања. Ови подаци могу бити корисни за даље *in vitro* и *in vivo* биолошке процене ових антиоксидативних једињења.

**Кључне речи:** цисплатин, Zn(II) комплекси, терпи лиганд, ДНК заштитни потенцијал

**Истраживање је финансирано средствима:** Аутори се захваљују на финансијској подршци Министарства за науку, технолошки развој и иновације Републике Србије (Уговор бр. 451-03-47/2023-01/200378).

# IN VITRO ANTIGENOTOXICITY OF NOVEL HETEROMETALLIC DINUCLEAR COMPLEXES

Majda Kolenović Serezlić,<sup>1</sup> Tanja V. Soldatović,<sup>1</sup> Biljana Šmit,<sup>2</sup> Sanja Lj. Matić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Natural-Mathematical Sciences, State University of Novi Pazar, Novi Pazar, Serbia

<sup>2</sup>Institute for Information Technology, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

## ABSTRACT

The four novel dinuclear complexes  $[\{cis-PtCl(NH_3)_2(\mu-4,4'-bipyridyl)ZnCl(terpy-Cl)\}](ClO_4)_2$ ,  $[\{trans-PtCl(NH_3)_2(\mu-4,4'-bipyridyl)ZnCl(terpy-Cl)\}](ClO_4)_2$ ,  $[\{cis-PtCl(NH_3)_2(\mu-pyrazine)ZnCl(terpy-Cl)\}](ClO_4)_2$  and  $[\{trans-PtCl(NH_3)_2(\mu-pyrazine)ZnCl(terpy-Cl)\}](ClO_4)_2$ , derived from mononuclear  $[ZnCl(terpy-Cl)]$ , (where  $terpy-Cl = 4'-chloro-2,2':6',2''-terpyridine$ ) were synthesized and characterized.

The possible DNA-protective effects of these complexes at different concentrations (25, 50, 100, 200, and 400  $\mu g/ml$ ) against hydroxyl and peroxy radicals-induced DNA damage were determined using two in vitro antioxidant assays. Compared with the negative and positive controls, all complexes showed the significant DNA-protective effects at the concentrations tested, indicating scavenging activity on hydroxyl and peroxy radicals generated by  $FeSO_4$ ,  $H_2O_2$ , and AAPH.

In our previous study four dinuclear complexes of similar structure, analogues of these complexes but without chloride substituent in terpy ligand, were also used to evaluate the antigenotoxicity. Only  $[\{cis-PtCl(NH_3)_2(\mu-pyrazine)ZnCl(terpy)\}](ClO_4)_2$  had significant dose-dependent ability to inhibit peroxy as well as hydroxyl radicals which is in line with the current study and antigenotoxicity of tested complex  $[\{cis-PtCl(NH_3)_2(\mu-pyrazine)ZnCl(terpy-Cl)\}](ClO_4)_2$ . The significant DNA protective potential against hydroxyl and peroxy radicals was also obtained for the remaining three tested dinuclear complexes. The presence of the chloride in the structure of newly synthesized complexes increase the electronic density on Zn center and, thus, decrease its nucleophilicity, which could be an explanation of their behavior. This data could be useful for further in vitro and in vivo biological evaluations of these antioxidative compounds.

**Key words:** cisplatin, Zn(II) complexes, terpy ligand, DNA protective potential

**Funding:** The authors gratefully acknowledge financial support from the Ministry of Science, Technological development and Innovations of the Republic of Serbia (Agreement No. 451-03-47/2023-01/200378).

# ПОТЕНЦИЈАЛ ПРИРОДНЕ НУТРИТИВНЕ ФОРМУЛЕ У ТРЕТМАНУ АНЕМИЈЕ

Марија Лесјак<sup>1</sup>, Немања Живановић<sup>1</sup>, Срђан Вујиновић<sup>1</sup>,  
Весна Мијатовић Јовин<sup>2</sup>, Даница Цујић<sup>3</sup>, Наташа Симин<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Природно-математички факултет Универзитета у Новом Саду, Нови Сад, Србија;

<sup>2</sup>Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, Нови Сад, Србија;

<sup>3</sup>Институт за примену нуклеарне енергије (ИНЕП), Земун, Србија

## САЖЕТАК

Према подацима Светске здравствене организације (СЗО) више од 30% светске популације има анемију услед недостатка гвожђа. Последице овакве анемије могу имати негативан утицај на здравље и допринети превременом порођају, отежаном физичком и когнитивном развоју деце и смањеној продуктивности код одраслих. Један од најчешћих узрока овакве анемије је ниска апсорпција гвожђа из хране у гастроинтестиналном тракту. Стандардна терапија за анемију је суплементација гвожђем која је субоптимална и има низ нуспојава. Циљ ове студије је био да се процени утицај иновативне и 100% природне нутритивне формуле, назване FeJuice™, направљене од воћа и поврћа, на апсорпције гвожђа мерењем параметара анемије у крви *in vivo*. Након што су уведени у анемију Wistar пацови су третирани орално током FeJuice™ нутритивном формулом током 27 узастопних дана. Узорци крви су узети из репне вене и кардијачном пункцијом, пре и после третмана FeJuice™ нутритивном формулом, редом, и мерени су параметри анемије у крви. Према резултатима, третман FeJuice™ нутритивном формулом повећао је стопу апсорпције гвожђа што потврђује повећање параметара анемије у крви, као што су ниво хемоглобина, серумског гвожђа и трансферина за најмање 10% по сваком параметру у поређењу са контролном групом. Стога, може се закључити да редовна конзумација FeJuice™ нутритивне формуле има велики потенцијал у превенцији и третману анемије изазване недостатком гвожђа без нежељених ефеката.

**Кључне речи:** анемија изазвана недостатком гвожђа, нутритивна формула, апсорпција гвожђа

**Истраживање је финансирано средствима:** Ову студију су финансијски подржали Фонд за иновациону делатност Републике Србије, Програм трансфера технологије (грант бр. 1078) и Министарство за науку, технолошки развој и иновације Републике Србије (грант бр. 451-03-47/2023-01/200125).

# POTENTIAL OF NATURAL NUTRITIONAL FORMULA IN ANEMIA TREATMENT

Marija Lesjak<sup>1</sup>, Nemanja Živanović<sup>1</sup>, Srđan Vujinović<sup>1</sup>,  
Vesna Mijatović Jovin<sup>2</sup>, Danica Cujić<sup>3</sup>, Nataša Simin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Sciences University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia

<sup>2</sup>Faculty of Medicine University of Novi Sad, Novi Sad, Serbia

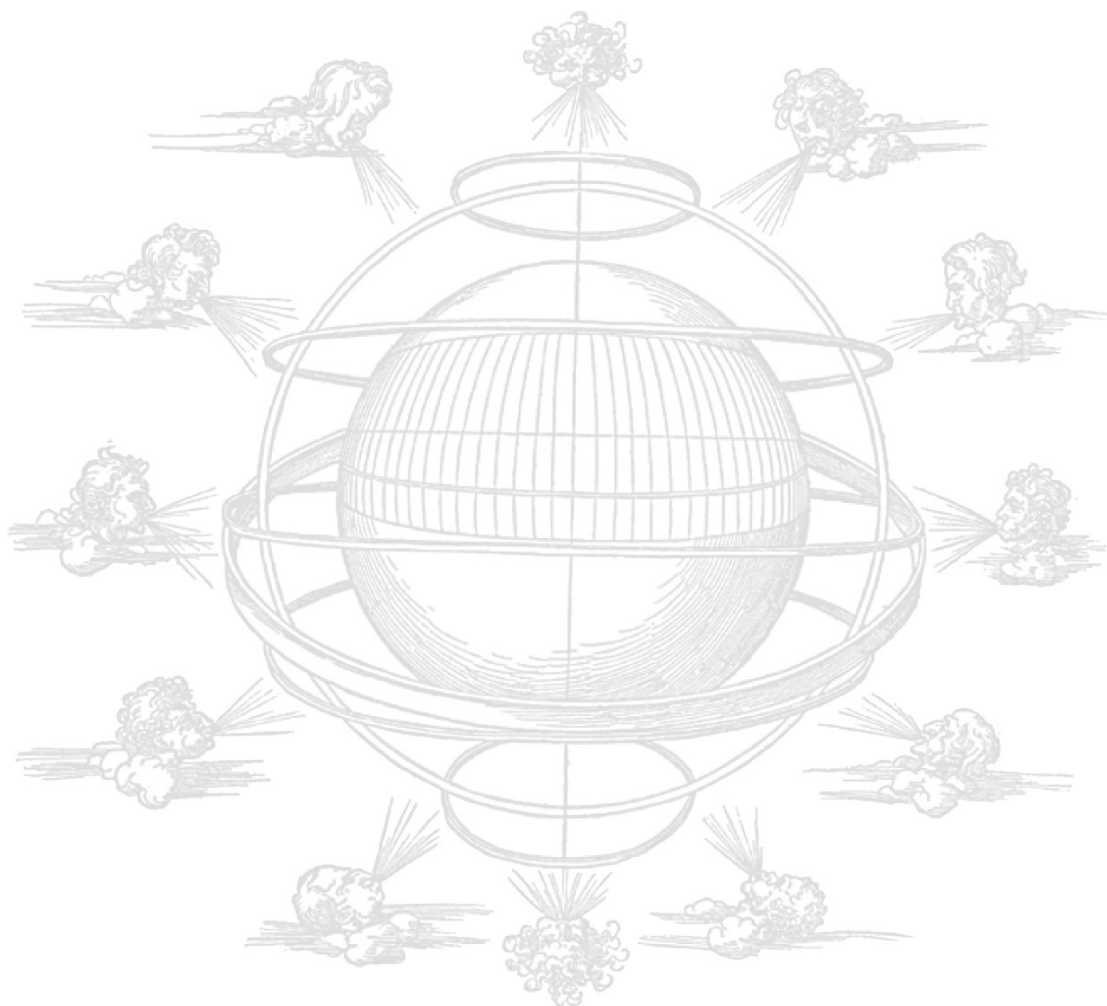
<sup>3</sup>Institute for the Application of Nuclear Energy, Zemun, Serbia

## ABSTRACT

According to the World Health Organization (WHO) more than 30% of the world population is affected with iron deficiency anemia (IDA). Consequences of IDA can be detrimental and contribute to the premature birth, impaired physical and cognitive development in children and reduced productivity in adults. One of the most common cause of IDA is low rate of iron absorption from food in gastrointestinal track. The standard therapy for IDA is iron supplementation which is suboptimal and has a number of side-effects. The aim of this study was to evaluate the influence of innovative and 100% natural nutritional formula, named FeJuice™, made of fruits and vegetables, on iron absorption rate by measuring anemia blood parameters *in vivo*. After becoming anemic Wistar male rats were treated orally during 27 consecutive days by FeJuice™ nutritional formula. Blood samples were taken from tail vein and by cardiac puncture, before and after the treatment with FeJuice™ nutritional formula, respectively, and anemia blood parameters were measured. According to results 27-days long treatment with FeJuice™ nutritional formula increased iron absorption rate since it caused increase in anemia blood parameters, such as hemoglobin, serum iron and TFS levels by at least 10% per each parameter compared with control group. Thus, regular consumption of FeJuice™ nutritional formula has a great potential to be beneficial for humans and prevent and treat IDA without side effects.

**Key words:** iron deficiency anemia, nutritional formula, iron absorption

**Funding:** This study was financially supported by the Innovation Fund of Republic of Serbia, Technology Transfer Program (Grant No. 1078) and Ministry of Science, Technological Development and Innovation of the Republic of Serbia (Grant No. 451-03-47/2023-01/200125).



# ПОВЕЋАНА ЕКСПРЕСИЈА GSTA4 У МЕЛАНОМУ ПОДСТИЧЕ ИЗБЕГАВАЊЕ АНТИТУМОРСКОГ ИМУНСКОГ ОДГОВОРА И ПОВЕЋАВА МЕТАСТАТСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ

Марија Мојић<sup>1,2</sup>, Сиска Уће<sup>1</sup>, Сатору Јокојама<sup>1,3</sup>, Јошихиро Хајакава<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт за природну медицину, Универзитет у Тојами, Тојама, Јапан

<sup>2</sup> Одељење за имунологију, Институт за биолошка истраживања „Синиша Спанковић” Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија

<sup>3</sup> Посидипломске студије медицине и фармације, Универзитет у Тојами, Тојама, Јапан

## САЖЕТАК

IFN $\gamma$  је кључни цитокин антитуморског имунског одговора. У ћелијама канцера, IFN $\gamma$  стимулише производњу реактивних врста кисеоника. Настало стање оксидативног стреса доводи до оштећења ДНК и, последично, до сенесценције или до фероптозе, ћелијске смрти посредоване пероксидацијом липида. Неадекватан одговор на IFN $\gamma$  је честа одлика канцера са способних да „побегну“ антитуморском имунском одговору. Уједно, овај дефект у одговору на IFN $\gamma$  се сматра значајним чиниоцем ограниченог успеха имуноterapiје код пацијанта са канцером.

У овој студији, истражили смо како ћелије тумора избегавају антитуморски имунски одговор посредован цитокином IFN $\gamma$ . Успоставили смо ћелијске линије меланома које су „побегле“ антитуморском имунском одговору и анализирали смо промене у њиховом фенотипу. Открили смо да су ћелије меланома које су избегле имунски одговор развиле резистенцију на оксидативни стрес индукован IFN $\gamma$ . Кључни играч у овом процесу је глутатион-С-трансфераза (енг.GSTA4), члан породице ензима за детоксикацију који имају важну улогу у ћелијском одговору на оксидативни стрес. Осим тога, ћелије меланома које су избегле имунски одговор су стекле већи метастатски потенцијал *in vivo*, такође зависан од повећаног нивоа експресије GSTA4. Код пацијената са меланомом утврђено је да нижи ниво експресије GSTA4 корелира са бољом стопом преживљавања без метастаза. Такође, пацијенти са меланомом код којих је нижа GSTA4 експресија боље реагују на анти-PD1 терапију и имају су бољу стопу преживљавања без прогресије тумора.

Наши резултати расветљавају нови механизам помоћу којег ћелије канцера избегавају имунолошки надзор и повећавају свој метастатски потенцијал, развијањем резистенције на оксидативни стрес услед повећане експресије GSTA4. Стога, таргетирање молекула у одговору канцера на оксидативни стрес представља обећавајући терапеутски приступ за превазилажење резистенције на антитуморски имунски одговор и регулисање метастазирања.

**Кључне речи:** IFN $\gamma$ , меланом, GSTA4, избегавање антитуморског имунског одговора, метастазе

**Рад је публикован:** Uсcне S, Yokoyama S, Moјic M, Kohei O, Ohshima C, Tsuihiji H, Takasaki I, Tahara H, Hayakawa Y. GSTA4 Governs Melanoma Immune Resistance and Metastasis. *Molecular Cancer Research* 2023 Jan 3;21(1):76-85. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-22-0369. (IF 6.333)

**Истраживање је финансирано средствима:** Додељивање помоћи за научно истраживање у иновативним областима (17Н06398 and 21Н02783), Министарство просвете, културе, спорта, науке и технологије (МЕХТ), Јапан; Јасуда меморијална фондација за медицину; Кооперативни истраживачки пројекат Института за природну медицину, Универзитет у Тојами, Тојама, Јапан.

# GSTA4 UPREGULATION PROMOTES MELANOMA IMMUNE EVASION AND METASTASIS

Marija Mojić<sup>1,2</sup>, Sisca Ucche<sup>1</sup>, Satoru Yokoyama<sup>1,3</sup>, Yoshihiro Hayakawa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Natural Medicine, University of Toyama, Toyama, Japan

<sup>2</sup> Department of Immunology, Institute for Biological Research "Siniša Stanković", National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

<sup>3</sup> Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, Toyama, Japan

## ABSTRACT

IFN $\gamma$  is a crucial cytokine in antitumor immunity. In cancer cells, IFN $\gamma$  promotes excessive production of the reactive oxygen species. Oxidative stress leads to DNA damage and, consequently, triggers cellular senescence or ferroptosis, a type of cell death associated with increased lipid peroxidation. The IFN $\gamma$  response defect is commonly observed in cancers that exhibit immunoevasive properties. This defect is considered a significant factor contributing to the limited success of cancer immunotherapy in patients with cancer.

In this study, we explored how tumor cells evade the IFN $\gamma$ -dependent immune response. We established immune-escape variants of melanoma cells and analyzed changes in their phenotype. We found that the immune-escape melanoma variants gained resistance to the IFN $\gamma$ -induced oxidative stress response. The critical molecule in this process was glutathione-S-transferase-4 (GSTA4), a member of a family of detoxification enzymes that play an important role in cellular oxidative stress responses. In addition to the resistance to IFN $\gamma$ -mediated antitumor immunity, the immune-escape melanoma variants acquired higher metastatic ability *in vivo* by a GSTA4-dependent mechanism. Melanoma patients with lower expression of GSTA4 had better prognosis in terms of metastasis-free survival rate. Additionally, melanoma patients with low GSTA4 expression were better responders to anti-PD1 therapy and showed a better progression-free survival rate.

Our results reveal a novel mechanism by which cancer cells escape from immune surveillance and increase metastatic potential by developing resistance to oxidative stress responses through GSTA4 upregulation. Therefore, targeting the oxidative stress response in cancer cells presents a promising therapeutic approach for overcoming immune resistance and regulating metastatic progression.

**Key words:** IFN $\gamma$ , melanoma, GSTA4, immune evasion, metastasis

**The paper is published:** Ucche S, Yokoyama S, Mojić M, Kohei O, Ohshima C, Tsuihiji H, Takasaki I, Tahara H, Hayakawa Y. GSTA4 Governs Melanoma Immune Resistance and Metastasis. *Molecular Cancer Research* 2023 Jan 3;21(1):76-85. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-22-0369. (IF=6.333)

**Funding:** Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas (17H06398 and 21H02783), The Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (MEXT), Japan, Yasuda Memorial Medical Foundation, the Cooperative Research Project from the Institute of Natural Medicine, University of Toyama.

# МОДУЛАЦИЈСКА УЛОГА ГАЛЕКТИНА-1 У УЛЦЕРОЗНОМ КОЛИТИСУ СА МЕТАБОЛИЧКИМ СИНДРОМОМ КАО КОМОРБИДИТЕТОМ

Марина Јовановић<sup>1</sup>, Кемал Ђоровић<sup>2</sup>, Бојан Стојановић<sup>3</sup>, Анђела Петровић<sup>4</sup>,  
Исидора Станисављевић<sup>4</sup>, Слађана Павловић<sup>4</sup>, Наташа Здравковић<sup>1</sup>, Вељко Марић<sup>5</sup>,  
Милан Јовановић<sup>6</sup>, Миодраг Јоцић<sup>6</sup>, Иван Јовановић<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Универзитет у Крајеву, Факултет медицинских наука, Катедра за интерну медицину

<sup>2</sup> Здравствени центар Тушин

<sup>3</sup> Универзитет у Крајеву, Факултет медицинских наука, Катедра за хирургију

<sup>4</sup> Универзитет у Крајеву, Факултет медицинских наука,

Центар за молекулску медицину и испитивање мајичних ћелија

<sup>5</sup> Универзитет у Источном Сарајеву, Медицински факултет, Катедра за хирургију

<sup>6</sup> Универзитет одбране у Меограду, Медицински факултет ВМА

## САЖЕТАК

Метаболички синдром (MetS) и улцерозни колитис (UC) су широко распрострањена здравствена стања која карактерише хронична упала ниског степена. Галектин-1 (Gal-1), имуномодулаторни пептид који се углавном излучује из масног ткива, потенцијално би могао да игра кључну улогу у ублажавању ових стања. Ова студија попречног пресека истражује укључивање Gal-1 у MetS и UC у оквиру групе од 75 пацијената, којима је недавно дијагностикован UC. MetS подгрупа је показала повећане фекалне нивое Gal-1 у поређењу са онима без MetS. Штавише, Gal-1 је показао превагу над проинфламаторним цитокинима, укључујући TNF- $\alpha$ , IL-6 и IL-17, код ових субјеката. Ови налази наглашавају потенцијално учешће Gal-1 у патофизиологији UC и MetS, представљајући га као обећавајући дијагностички биомаркер и терапијски циљ за ова стања.

**Кључне речи:** галектин-1, улцерозни колитис, метаболички синдром, инфламација

**Рад је публикован:** Corovic K, Stojanovic B, Petrovic A, Stanisljevic I, Maric V, Zdravkovic N, Jovanovic M. Modulatory role of galectin-1 in ulcerative colitis with comorbid metabolic syndrome. EABR 2023; DOI: 10.2478/eabr-2023-0006

# MODULATORY ROLE OF GALECTIN-1 IN ULCERATIVE COLITIS WITH COMORBID METABOLIC SYNDROME

Marina Jovanović<sup>1</sup>, Kemal Ćorović<sup>2</sup>, Bojan Stojanović<sup>3</sup>, Anđela Petrović<sup>4</sup>, Isidora Stanisavljević<sup>4</sup>, Slađana Pavlović<sup>4</sup>, Nataša Zdravković<sup>1</sup>, Veljko Marić<sup>5</sup>, Milan Jovanović<sup>6</sup>, Miodrag Jocić<sup>6</sup>, Ivan Jovanović<sup>4</sup>

<sup>1</sup> *University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Internal medicine*

<sup>2</sup> *Health Center Tutin, Serbia*

<sup>3</sup> *University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Department of Surgery*

<sup>4</sup> *University of Kragujevac, Serbia, Faculty of Medical Sciences, Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research*

<sup>5</sup> *University of East Sarajevo, BiH, Medical faculty, Department of Surgery*

<sup>6</sup> *University of Defense in Belgrade, Medical faculty of MMA*

## ABSTRACT

Metabolic syndrome (MetS) and ulcerative colitis (UC) are widespread health conditions characterized by chronic, low-grade inflammation. Galectin-1 (Gal-1), an immunomodulatory peptide mainly secreted from adipose tissue, could potentially play a crucial role in mitigating these conditions. This cross-sectional study explores the involvement of Gal-1 in MetS and UC within a cohort of 75 patients, newly diagnosed with UC. The MetS subgroup displayed increased fecal Gal-1 levels compared to those without MetS. Furthermore, Gal-1 showed predominance over pro-inflammatory cytokines, including TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-17, in these subjects. These findings emphasize the potential involvement of Gal-1 in the pathophysiology of UC and MetS, presenting it as a promising diagnostic biomarker and therapeutic target for these conditions.

**Key words:** galectin-1, ulcerative colitis, metabolic syndrome, inflammation

**The paper is published:** Corovic K, Stojanovic B, Petrovic A, Stanisavljevic I, Maric V, Zdravkovic N, Jovanovic M. Modulatory role of galectin-1 in ulcerative colitis with comorbid metabolic syndrome. EABR 2023; DOI: 10.2478/eabr-2023-0006

# АНТИТУМОРСКА АКТИВНОСТ НОВИХ КОМПЛЕКСА РУТЕНИЈУМА(III) СА ШИФОВИМ БАЗАМА

Милица Међедовић<sup>1</sup>, Марија Миловановић<sup>2,3</sup>, Јелена Миловановић<sup>2,4</sup>, Драгана Арсенијевић<sup>2,5</sup>,  
Бојана Стојановић<sup>2,6</sup>, Милош Арсенијевић<sup>7</sup>, Татјана Кањевац<sup>8</sup>, Ана Рилак Симовић<sup>9</sup>

<sup>1</sup>Универзитет у Крајевцу, Природно-математички факултет,  
Департаман за хемију, Крајевац, Србија

<sup>2</sup>Центар за смањење штетности биолошких и хемијских хазарда, Факултет медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Србија, Крајевац, Србија

<sup>3</sup>Капедра за микробиологију и имунологију, Факултет медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија

<sup>4</sup>Капедра за хистологију и ембриологију, Факултет медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија

<sup>5</sup>Одсек за фармацију, Факултет медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија

<sup>6</sup>Капедра за патофизиологију, Факултет медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија

<sup>7</sup>Капедра за хирургију Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија

<sup>8</sup>Институт за стоматологију, Крајевац, Србија

<sup>9</sup>Универзитет у Крајевцу, Институт за информационе технологије Крајевац,  
Департаман за природне науке, Крајевац, Србија

## САЖЕТАК

У овом истраживању испитана је антитуморска активност новосинтетисаних комплекса рутенијума(III)  $[Ru(L)Cl(H_2O)]$ , где је L is тетрадентатни Schiff base *bis*(acetylaceton) ethylendiimine (acacen, **1**), *bis* (benzoylaceton) ethylendiimine (bzacen, **2**), (acetylaceton) (benzoylaceton) ethylendiimine (acacbzacen, **3**), *bis*(acetylaceton) propylendiimine (acacpn, **4**), *bis* (benzoylaceton) propylendiimine (bzacpn, **5**) or (acetylaceton) (benzoylaceton) propylendiimine (acacbzacpn, **6**). Комплекси **2** (bzacen) и **5** (bzacpn) са два ароматична прстена показали су најјачи цитотоксички ефекат на хуманим ћелијама аденокарцинома плућа, A549, и мишјим ћелијама Луисовог тумора плућа, LLC1. Ови комплекси су смањили експресију pAKT, променили однос анти- и про-апоптотичких молекула и индуковали апоптозу A549 ћелија. Такође, комплекси **2** и **5** су смањили експресију pAKT у LLC1 ћелијама и смањили експресију и проценат ових ћелија које експримирају Mcl1 и Bcl2 и изазвали њихову апоптотску смрт. Комплекси **2** и **5** су смањили експресију молекула Ki67 у LLC1 ћелијама, што сугерише антипролиферативни ефекат ових комплекса. Коначно, комплекс **5** је смањио волумен примарног хетеротопског Луисовог карцинома плућа миша, док је комплекс **2** смањио инциденцу и просечан

број метастаза по плућима миша са хетеротопским Луисовим карциномом плућа.

**Кључне речи:** рутенијум(III), Шифове базе, антитуморска активност, Лусов тумор плућа

**Рад је публикован:** Milica Međedović, Aleksandar Mijatović, Rada Baošić, Dejan Lazić, Žiko Milanović, Zoran Marković, Jelena Milovanović, Dragana Arsenijević, Bojana Stojanović, Miloš Arsenijević, Marija Milovanović, Biljana Petrović, Ana Rilak Simović. Synthesis, characterization, biomolecular interactions, molecular docking, and in vitro and in vivo anticancer activities of novel ruthenium(III) Schiff base complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Vol 248, 2023, 112363, <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2023.112363>. (IF=3.9)

**Истраживање је финансирано средствима:** Истраживање је финансирало Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (No. 451-03-47/2023-01/200378, No. 451-03-47/2023-01/200122 и No. 451-03-47/2023-01/200111).

# ANTICANCER ACTIVITIES OF NOVEL RUTHENIUM(III) SCHIFF BASE COMPLEXES

Milica Međedović<sup>1</sup>, Marija Milovanović<sup>2,3</sup>, Jelena Milovanović<sup>2,4</sup>, Dragana Arsenijević<sup>2,5</sup>, Bojana Stojanović<sup>2,6</sup>, Miloš Arsenijević<sup>7</sup>, Tatjana Kanjevac<sup>8</sup>, Ana Rilak Simović<sup>9</sup>

<sup>1</sup>University of Kragujevac, Faculty of Science, Department of Chemistry, Kragujevac, Serbia

<sup>2</sup>Center for Harm Reduction of Biological and Chemical Hazards, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac,

<sup>4</sup>Department of Histology and Embryology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>5</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>6</sup>Department of Patophysiology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>7</sup>Department of Surgery, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>8</sup>Institute of Dentistry, Kragujevac, Serbia

<sup>9</sup>University of Kragujevac, Institute for Information Technologies Kragujevac, Department of Natural Sciences, Kragujevac, Serbia

## ABSTRACT

Antitumor activity of newly synthesized ruthenium(III) complexes  $[\text{Ru}(\text{L})\text{Cl}(\text{H}_2\text{O})]$ , where L is tetradentate Schiff base *bis*(acetylacetonate) ethylendiimine (acacen, 1), *bis*(benzoylacetonate) ethylendiimine (bzacen, 2), (acetylacetonate) (benzoylacetonate) ethylendiimine (acacbzacen, 3), *bis*(acetylacetonate) propylendiimine (acacpn, 4), *bis*(benzoylacetonate) propylendiimine (bzacpn, 5) or (acetylacetonate) (benzoylacetonate) propylendiimine (acacbzacpn, 6), was explored. Complexes 2 (bzacen) and 5 (bzacpn) with two aromatic rings showed the highest cytotoxic effects toward human, A549 and murine LLC1 lung cancer cells. These complexes reduced expression of pAKT, altered the ratio of anti- and pro-apoptotic molecules and induced apoptosis of A549 cells. Further, complexes 2 and 5 reduced the expression of pAKT in LLC1 cells and reduced the expression and percentage of Mcl1 and Bcl2 expressing LLC1 cells, and induced their apoptotic death. Complexes 2 and 5 reduced expressions of Ki67 molecule in LLC1 cells suggesting antiproliferative effect of these complexes in LLC1 cells. Finally, complex 5 reduced the volume of mouse primary heterotopic Lewis lung cancer, while complex 2 reduced the incidence and mean number of metastases per lung.

**Key words:** ruthenium(III), Schiff bases, antitumor activity, Lewis lung cancer

**The paper is published:** Milica Međedović, Aleksandar Mijatović, Rada Baošić, Dejan Lazić, Žiko Milanović, Zoran Marković, Jelena Milovanović, Dragana Arsenijević, Bojana Stojanović, Miloš Arsenijević, Marija Milovanović, Biljana Petrović, Ana Rilak Simović. Synthesis, characterization, biomolecular interactions, molecular docking, and in vitro and in vivo anticancer activities of novel ruthenium(III) Schiff base complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*. Vol 248, 2023, 112363, <https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2023.112363>. (IF=3.9)

**Funding:** The authors gratefully acknowledge the financial support from the Ministry of Science, Technological Development and Innovation of the Republic of Serbia (Agreement No. 451-03-47/2023-01/200378, Agreement No. 451-03-47/2023-01/200122 and Agreement No. 451-03-47/2023-01/200111) for financial support.

# ДЕФИЦИЈЕНЦИЈА ГАЛЕКТИНА-3 СМАЊУЈЕ ОШТЕЋЕЊА ОРГАНА ИЗАЗВАНА АКУТНОМ ИНТРАВАСКУЛАРНОМ ХЕМОЛИЗОМ

Мирјана Миљинковић<sup>1,2</sup>, Александар Арсенијевић<sup>1,3</sup>, Драгана Арсенијевић<sup>1,4</sup>, Весна Росић<sup>5</sup>,  
Марија Миловановић<sup>1,3</sup>, Небојша Арсенијевић<sup>3,6</sup>, Јелена Миловановић<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Центар за смањење штетности биолошких и хемијских хазарда, Факултет медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија

<sup>2</sup>Институт за трансфузиологију, Војномедицинска академија, Београд, Србија

<sup>3</sup>Капедра за микробиологију и имунологију, Факултет медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија.

<sup>4</sup>Одсек за фармацију, Факултет медицинских наука Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија.

<sup>5</sup>Капедра за хистологију и ембриологију, Факултет медицинских наука  
Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија.

<sup>6</sup>Центар за молекулску медицину и истраживање мајичних ћелија,  
Факултет медицинских наука Универзитета у Крајевцу, Крајевац, Србија.

## САЖЕТАК

Интраваскуларну хемолizu прати ослобађање проинфламацијских компоненти еритроцита, које уколико се ослободе у количини довољној да премаше капацитет хаптоглобина и хемопексина, индукују системску инфламацију и оштећења различитих органа. Gal-3 (Galectin-3), молекул који се налази у готово свим ћелијама и екстрацелуларном простору, регулише бројне ћелијске процесе, инфламацијски и имунски одговор. Циљ овог рада је да се испита утицај Gal-3 на развој оштећења органа након акутне интраваскуларне хемолize изазване фенилхидразином коришћењем Gal-3 дефицијентних (Gal3<sup>-/-</sup>) и Gal-3 позитивних (WT) мишева. Хистолошким анализом исечака добијених 48 сати након примене фенилхидразина уочено је значајно мање оштећење бубрега, јетре и панкреаса, органа у којима се депонују хемоглобин и његови разградни производи, у групи Gal3<sup>-/-</sup> мишеви. Такође су концентрације урее, креатинина и амилазе значајно мање у серуму Gal3<sup>-/-</sup> мишева у поређењу са групом WT мишева. Gal-3 не утиче на степен хемолize изазване фенилхидразином, број еритроцита, хематокрит и концентрација хемоглобина се не разликују међу групама, али је број леукоцита значајно већи у периферној крви WT мишева у поређењу са групом Gal3<sup>-/-</sup> мишева. У слезинама Gal3<sup>-/-</sup> мишева утврђен је значајно већи проценат алтернативно активираних (CD206<sup>+</sup>) и регулаторних (IL-10<sup>+</sup>) макрофага (F4/80<sup>+</sup>) и дендритских ћелија (CD11c<sup>+</sup>), али и значајно мањи проценат инфламацијских (IL-1β<sup>+</sup>, TNF-α<sup>+</sup>, IL-12<sup>+</sup> и IL-6<sup>+</sup>) макрофага и дендритских ћелија него у слезинама WT мишева. Мање оштећење органа у групи Gal3<sup>-/-</sup> мишева третираних фенилхидразином праћено је и значајно већим процентом регулаторних и значајно мањим

процентом инфламацијских (IL-17+ и IFN- $\gamma$ +) CD4+ и CD8+ ћелија у слезини у поређењу са групом WT мишева. Резултати ове студије указују да Gal-3 не утиче на степен хемолизе, али појачава акутни системски инфламацијски одговор који покрећу хемоглобин и хем ослобођени из оштећених еритроцита, што за последицу има веће оштећење органа.

**Кључне речи:** галектин-3, акутна интраваскуларна хемолиза, фенилхидразин, инфламација, оштећење органа

**Истраживање је финансирано средствима:** Истраживање су финансирали Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (ОИ175069) и Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (ЈР 19/19).

# GAL-3 DEFICIENCY DECREASES DAMAGE OF ORGANS INDUCED BY ACUTE INTRAVASCULAR HEMOLYSIS

Mirjana Milinković<sup>1,2</sup>, Aleksandar Arsenijević<sup>1,3</sup>, Dragana Arsenijević<sup>1,4</sup>, Vesna Rosić<sup>5</sup>,  
Marija Milovanović<sup>1,3</sup>, Nebojša Arsenijević<sup>3,6</sup>, Jelena Milovanović<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Center for Harm Reduction of Biological and Chemical Hazards, Faculty of Medical Sciences,  
University of Kragujevac, Serbia, Kragujevac, Serbia

<sup>2</sup>Institute of Transfusiology, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia

<sup>3</sup>Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medical Sciences,  
University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>4</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia

<sup>5</sup>Department of Histology and Embryology, Faculty of Medical Sciences,  
University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>6</sup>Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences,  
University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

## ABSTRACT

Intravascular hemolysis is followed by the release of proinflammatory components of erythrocytes, which, if released in a quantity sufficient to exceed the capacity of haptoglobin and hemopexin, induce systemic inflammation and damage to various organs. Gal-3 (Galectin-3), a molecule found in almost all cells and extracellular space, regulates numerous cellular processes including death and survival, and also inflammatory and immune response. The aim of this work is to investigate the influence of Gal-3 on the development of organ damage after acute intravascular hemolysis caused by phenylhydrazine, using Gal-3 deficient (Gal3<sup>-/-</sup>) and Gal-3 positive (WT) mice. Histological analysis of tissue sections obtained 48 hours after the administration of phenylhydrazine showed significantly reduced damage in kidneys, liver and pancreas, organs in which hemoglobin and its breakdown products are deposited, in the group of Gal3<sup>-/-</sup> mice. Also, the concentrations of urea, creatinine and amylase are significantly lower in the serum of Gal3<sup>-/-</sup> mice compared to the group of WT mice. Gal-3 does not affect the extent of phenylhydrazine-induced hemolysis. Erythrocytes, hematocrit, and hemoglobin do not differ between groups, but leukocyte count is significantly higher in the peripheral blood of WT mice compared to Gal3<sup>-/-</sup> group. In the spleens of Gal3<sup>-/-</sup> mice was detected a significantly higher percentage of alternatively activated (CD206<sup>+</sup>) and regulatory (IL-10<sup>+</sup>) macrophages (F4/80<sup>+</sup>) and dendritic cells (CD11c<sup>+</sup>), but also a significantly lower percentage of inflammatory (IL-1 $\beta$ <sup>+</sup>, TNF- $\alpha$ <sup>+</sup>, IL-12<sup>+</sup> and IL-6<sup>+</sup>) macrophages and dendritic cells compared to spleens of WT mice. Less organ damage in the group of Gal3<sup>-/-</sup> mice treated with phenylhydrazine was accompanied by a significantly higher percentage of regulatory CD4<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> T cells in the spleen and a significantly lower percentage of inflammatory (IL-17<sup>+</sup> and IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>) CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> cells.

The results of this study indicate that Gal-3 does not affect the degree of hemolysis, but enhances the acute systemic inflammatory response triggered by hemoglobin and heme released from damaged erythrocytes, resulting in greater organ damage caused by acute hemolysis.

**Key words:** galectin-3, acute intravascular hemolysis, phenylhydrazine, inflammation, organ damage

**Funding:** The authors acknowledge the financial support from the Ministry of Science, Technological Development and Innovation of the Republic of Serbia (OI 175069), and The Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (JP 19/19).

# УТИЦАЈ ЦЕНТРАЛНЕ ЛИМФНЕ ДРЕНАЖЕ КАО ДЕЛА КОМБИНОВАНЕ МАНУАЛНЕ ТЕРАПИЈЕ НА ЛАБОРАТОРИЈСКЕ ЗНАКЕ ИНФЛАМАЦИЈЕ КОД ПАЦИЈЕНТКИЊЕ СА ПСОРИЈАТИЧНИМ АРТРИТИСОМ

Наталиа Соловјова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Академија примењених студија Београд, Висока здравствена школа, Београд, Србија

## САЖЕТАК

Псоријатични артритис је хронична, имунски посредована, инфламацијска артропатија која се манифестује упалом зглобова и ентеза, укључујући оне аксијалног скелета, а повезана је са повећаном смртношћу од кардиоваскуларних болести. Лимфни систем континуирано обавља транспорт течности, леукоцита, протеина, масти и других продуката метаболизма. Пошто пражњење централног дела лимфног система стимулише пражњење периферних делова лимфног система, централна лимфна дренажа би требало да подстакне слободан ток лимфе у целом лимфном систему, а обухвата мануелну интервенцију помоћу које се могу дијагностиковати, лечити и спречити болести или повреде.

Циљ рада је да се прикаже како централна лимфна дренажа утиче на динамику индикатора инфламације у крви болеснице са псоријатичним артритисом.

Пацијенткиња Б. јавила се у салон за естетску масажу и едукације "Наталиа Соловјова" 19.12.21. надајући се да ће терапије учинити непотребном примену метатрексаата који су прописали доктори Института за реуматологију због налаза повишених параметара упале (СЕ 38, CRP 4,2(06. 08.21.) СЕ 60, CRP 10,9 (12.08.21.) СЕ-80 (12.10.21) и *Dg: Psoriasis L-40 arthropathiae psoriaticae aliae (L 40,5+)-M07.3, Gonarthrosis inc.-M17*. Пацијенткиња испуњава критеријуме за псоријатички артритис (запаљенски синдром, HLA-B27 позитивна). Пацијенткињи је урађена централна лимфна дренажа, стимулација вагуса, висцерална, кранијална и миофасцијална терапија, обезбеђена је нормална дренажа ликвора из 3. Мождане коморе јер је приликом прегледа констатован застој ликвора у 3. комори. Након друге интервенције пацијенткиња је замољена да уради контролне анализе. Резултати су били следећи: 29.4.22. СЕ-24; 07.02.23 СЕ-5. 28.5.23 СЕ-20 5.9.2013 СЕ- 20 (референтна вредност лабораторије 28). Инфламацијске промене су се повукле као и болови у десном колелу и ремисија траје 1.5 годину.

Резултати указују да би централна лимфна дренажа, као део комбиноване терапије, могла да утиче на ток акутних и хроничних инфламацијских болести.

**Кључне речи:** псоријатични артритис, лимфна дренажа, инфламацијске болести

# THE INFLUENCE OF CENTRAL LYMPH DRAINAGE AS PART OF COMBINED MANUAL THERAPY ON LABORATORY SIGNS OF INFLAMMATION IN PATIENTS WITH PSORIATIC ARTHRITIS

Natalia Solovjova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Academy of Applied Studies Belgrade, University of Health, Belgrade, Serbia

## ABSTRACT

Psoriatic arthritis is a chronic, immune-mediated, inflammatory arthropathy manifested by inflammation of joints and entheses, including those of the axial skeleton, and is associated with increased mortality from cardiovascular diseases. The lymphatic system continuously transports fluids, leukocytes, proteins, fats and other metabolic products. Since the draining of the central part of the lymphatic system stimulates the draining of the peripheral parts of the lymphatic system, central lymphatic drainage is supposed to encourage the free flow of lymph throughout the lymphatic system, and includes manual intervention by which diseases or injuries can be diagnosed, treated and prevented.

The aim of the investigation is to show how central lymphatic drainage affects the dynamics of inflammation indicators in the blood of a patient with psoriatic arthritis.

Patient B. came to the aesthetic massage and education salon "Natalia Solovjova" on 12/19/21. hoping that the therapies will make unnecessary the use of methotrexate prescribed by the doctors of the Institute of Rheumatology due to the findings of elevated inflammation parameters (SE 38, CRP 4.2 (06. 08.21) SE 60, CRP 10.9 (12.08.21) SE-80 (12.10.21) and Dg: Psoriasis L-40 arthropathiae psoriaticae aliae (L 40.5+)-M07.3, Gonarthrosis inc.-M17. The patient meets the criteria for psoriatic arthritis (inflammatory syndrome, HLA-V27 positive). central lymphatic drainage, vagus stimulation, visceral, cranial and myofascial therapy, normal drainage of cerebrospinal fluid from the 3rd cerebral ventricle was provided because during the examination, cerebrospinal fluid stagnation was noted in the 3rd ventricle. After the second intervention, the patient was asked to do control analyses. The results were following: 4/29/22 SE-24;02/07/23 SE-5 5/28/23 SE-20 9/5/2013 SE- 20 (lab reference value 28) Inflammatory changes resolved as well as right knee pain and remission ongoing 1.5 years.

The results indicate that central lymphatic drainage, as part of combined therapy, could influence the course of acute and chronic inflammatory diseases.

**Key words:** psoriatic arthritis, lymphatic drainage, inflammatory diseases

# ПРОГНОСТИЧКИ И КЛИНИЧКИ ЗНАЧАЈ ЕКСПРЕСИЈЕ PD-L1, EGFR И АНДРОГЕНОГ РЕЦЕПТОРА (AR) КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ТРОСТРУКО НЕГАТИВНИМ КАРЦИНОМОМ ДОЈКЕ (ТНҚД)

Наташа Медић-Милијић<sup>1</sup>, Ирена Јованић<sup>1</sup>, Милица Недељковић<sup>1</sup>, Игор Спурнић<sup>1</sup>,  
Зорка Миловановић<sup>1</sup>, Нејла Адемовић<sup>2</sup>, Никола Танић<sup>2</sup>, **Наста Танић**<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>Институт за онкологију и радиологију Србије, Београд, Србија;

<sup>2</sup>Одељење за неуробиологију, Институт за биолошка истраживања “Синиша Станковић”,  
Институт од националног значаја за Републику Србију,  
Универзитет у Београду, Београд, Србија.

<sup>3</sup>Лабораторија за радиобиологију и молекуларну генетику, Институт за нуклеарне науке  
„Винча“, <sup>4</sup>Институт од националног значаја за Републику Србију,  
Универзитет у Београду, Београд, Србија;

Државни Универзитет у Новом Пазару, Департман за природно-математичке науке,  
Нови Пазар, Србија.

## САЖЕТАК

Рак дојке је најчешћи тип малигнитета и водећи узрок смрти од карцинома код жена. Троструко негативни карцином дојке (ТНБЦ) је најагресивнији његов подтип који се одликује високом стопом рецидива, учесталом појавом удаљених метастаза, као и лошим утицајем на укупно преживљавање. Циљ ове студије је био одређивање експресије PD-L1 (*Programmed Death-Ligand 1*), EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) и андроген рецептора (AR) код пацијенткиња оболелих од ТНҚД као и да се утврди да ли њихова измењена експресија корелира са клиничким током болести, прогресијом болести и/или одговором на примењену терапију.

Овом ретроспективном студијом обухваћено је 125 пацијенткиња оболелох од троструко негативних карцинома дојке које су у периоду 2009. до 2014. године оперисане у Институту за онкологију и радиологију Србије. Експресија PD-L1, EGFR и AR је одређена имунохистохемијском методом дојења. Статус експресије PD-L1 је одређен коришћењем комбинованог позитивног скорa (ЦПС), експресија EGFR је одређена коришћењем *Allred scoring* система са граничним вредностима:  $\leq 4$  и  $> 4$  (ниска/висока експресија), док је одређивање статуса експресије AR подразумевало квантитативну методу базирану на проценту нуклеарне експресије малигних ћелија било ког интезитета (гранична вредност за позитивну експресију била је  $\geq 10\%$ ).

Ова студија је показала да је повећана експресија PD-L1 у значајној корелацији са вишим хистолошким градусом тумора ( $p=0,0002$ ), нуклеарним

градусом ( $p=0,0007$ ) и са чешћом појавом локо-регионалних рецидива ( $p=0,0146$ ). Повећана експресија PD-L1 протеина нема значањијег утицаја на дужину интервала без болести и на укупно преживљавање (DFI и OS). Супротно овоме, експресија AR је у асоцијацији са DFI ( $p=0,0171$ ), и у корелацији је са вишим градусом тумора. Утврђено је такође да постоји значајна повезаност у симултаном експресији ова два протеина, PD-L1 и AR (*Spearman*  $r = -0,2747$ ; 95% интервал поверења  $-0,4339$  до  $-0,09895$ ;  $P$  (двострано)  $0,0019$ ). Истовремено јасно су дефинисане две групе пацијенткиња-са повишеном експресијом PD-L1 и AR и са смањеном експресијом ова два протеина и утврђено је да симултана експресија корелира са градусом тумора ( $p=0,05$ ), нуклеарним градусом ( $p=0,0242$ ) и учесталости појаве метастаза ( $p=0,0497$ ). Истовремено, симултана експресија утиче на DFI ( $p=0,0191$ ) и OS ( $p=0,0471$ ). Запажено је да експресија Ki67 значајно корелира са експресијом PD-L1 и AR, као и да има исти образац експресије, док смањена експресија EGFR доприноси чешћој појави метастаза ( $p=0,0249$ ) и краћем интервалу укупног преживљавања ( $p=0,0127$ ).

Добијени резултати сугеришу да би истовремено испитивање експресије протеина PD-L1, AR, EGFR и Ki67 могло бити корисније у предвиђању клиничког тока ТНҚД од појединачних анализа. Наши резултати су показали да би група ТНҚД "високог ризика" могла бити она са симултаном високом експресијом PD-L1 и AR, праћена високом експресијом Ki67.

Кључне речи: троструко негативни карциноми дојке, PD-L1, AR, EGFR, Ki67.

# PROGNOSTIC AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF PD-L1, EGFR AND ANDROGEN RECEPTOR (AR) EXPRESSION IN TRIPLE-NEGATIVE BREAST CANCER (TNBC) PATIENTS

Nataša Medić-Milijić<sup>1</sup>, Irena Jovanić<sup>1</sup>, Milica Nedeljković<sup>1</sup>, Igor Spurnić<sup>1</sup>,  
Zorka Milovanović<sup>1</sup>, Nejla Ademović<sup>2</sup>, Nikola Tanić<sup>2</sup>, Nasta Tanić<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Oncology and Radiology of Serbia, Belgrade, Serbia;*

<sup>2</sup>*Department of Neurobiology, Institute for Biological Research "Siniša Stanković",  
National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia.*

<sup>3</sup>*Department of Radiobiology and Molecular Genetics, Institute of Nuclear Sciences "Vinča",  
National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia;*

<sup>4</sup>*State University of Novi Pazar, Department of Natural Sciences and Mathematics,  
Field of Biology, Novi Pazar, Serbia.*

## ABSTRACT

Breast cancer is the most commonly occurring malignancy and the leading cause of cancer-related death in women. Triple-negative breast cancer (TNBC) is the most aggressive breast cancer subtype and is associated with high recurrence rates, high incidence of distant metastases and poor overall survival. The aim of this study was to investigate the role PD-L1 (Programmed Death-Ligand 1), EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) and Androgen Receptor (AR) expression in TNBC promotion, progression and response to therapy,

This is a retrospective analysis of 125 patients with triple-negative breast cancer operated at the Institute of Oncology and Radiology of Serbia in the period 2009 to 2014. The expression of PD-L1, EGFR and AR were observed using the immunohistochemical staining method. PD-L1 expression was determined using the combined positive score (CPS), EGFR expression was determined using the Allred scoring system with cut-off values:  $\leq 4$  and  $> 4$  (low/high expression) while determining the expression status of AR involved a quantitative method based on the percentage of nuclear expression of malignant cells of any intensity (cut-off value for positive expression was  $\geq 10\%$ ).

Elevated expression of PD-L1 significantly correlated with higher tumor grade ( $p=0.0002$ ), nuclear grade ( $p=0.0007$ ) and loco-regional recurrence ( $p=0.0146$ ). Alone, it did not show any significant influence on survival (DFI or OS). Contrary to this, the expression of AR showed an impact on DFI (Disease Free Interval,  $p=0.0171$ ). In addition, elevated AR expression significantly correlated with higher tumor grade. Interestingly, the expression of PD-L1 and AR significantly correlated (Spearman  $r -0.2747$ ; 95% confidence interval  $-0.4339$  to  $-0.09895$ ;  $P$  (two-tailed)  $0.0019$ ) and we were able to make two groups of patients, those who had high

simultaneous expression of both genes and those who had low expression. Our results revealed that simultaneous high expression of PD-L1 and AR significantly correlates with tumor grade ( $p=0.05$ ), nuclear grade ( $p=0.0242$ ) and metastases ( $p=0.0497$ ) and has significant impact on DFI ( $p=0.0191$ ) and OS (overall survival) ( $p=0.0471$ ). Notably, the expression of Ki67 absolutely correlates with the expression of PD-L1 and AR, has the same pattern of expression. Moreover, reduced expression of EGFR contributes to metastases ( $p=0.0249$ ) and worse OS ( $p=0.0127$ ).

In conclusion, we believe that concurrent examination of PD-L1, AR, EGFR and Ki67 protein expression may be more useful in predicting TNBC clinical course than the analysis of single protein expression. Specifically, our results showed that simultaneous high expression of PD-L1 and AR, followed by Ki67 expression constitutes a 'high risk' profile of TNBC. Combining these results with our previous findings on PTEN-reduced/PI3K-high/mTOR-high expression could be the promising formula.

**Key words:** triple-negative breast cancer; PD-L1, AR, EGFR, Ki67

# УТИЦАЈ ЦИГАРЕТА И ЕЛЕКТРОНСКИХ УРЕЂАЈА ЗА ИСПОРУКУ НИКОТИНА НА ОШТЕЋЕЊЕ ПЛУЋА УЗРОКОВАНО ИМУНСКИМ ЂЕЛИЈАМА КОД МИШЕВА

Николина Кастратовић<sup>1</sup>, Владимир Марковић<sup>1</sup>, Александар Арсенијевић<sup>1</sup>, Ана Воларевић<sup>1</sup>,  
Милица Димитријевић Стојановић<sup>2</sup>, Александар Ацовић<sup>3</sup>, Владислав Воларевић<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Центар за смањење штете од биолошких и хемијских штетности, Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Светозар Марковић 69, 34000 Крајевац, Србија

<sup>2</sup> Катедра за патиологију, Факултет медицинских наука, Универзитета у Крајеву, Светозар Марковић 69, 34000 Крајевац, Србија

<sup>3</sup> Дејарман за ситоматологију, Факултет медицинских наука Универзитета у Крајеву, Светозар Марковић 69, 34000 Крајевац, Србија

## САЖЕТАК

Дуготрајна употреба запаљивих цигарета (енгл. *combustible cigarettes*, CCs) и електронских уређаја за испоруку никотина (енгл. *electronic nicotine delivery devices*, ENDS) несумњиво нарушава здравствено здравље самих пушача, али и индивидуа из околине који су изложени дуванском диму. Утицај цигарета и ENDS-а је испитиван на мишјем моделу хроничне инфламације плућа, при чему је фокус експеримента био усмерен на испитивању промена у молекуларним и ћелијским путевима инфламације. Методологија потребна за испитивање ефеката цигарета и ENDS-а на инфламацију плућа, односно на фенотип и функцију имунских ћелија одговорних за настанак и прогресију инфламације, је обухватила различите експерименталне методе: анализа параметара функције плућа, хистологија, ELISA и проточна цитометрија. Уочена је значајна разлика у системском инфламаторном одговору између експерименталних група ( мишеви CCs- и ENDS-изложени) и контролне (мишеви изложени ваздуху). Детектована је незанемарљива разлика у јачини имунског одговора између експерименталних група: ENDS-изложени мишеви су развили слабију инфламацију, која је резултирала мање озбиљним морфолошким и функционалним оштећењем плућа. Додатно, ENDS-изложени мишеви су у серуму имали ниже концентрације инфламаторних цитокина у поређењу са CCs-изложеним мишевима. На нивоу плућа долази до мањег регрутовања циркулишућих леукоцита до места инфламације када су мишеви изложени ENDS-у у поређењу са излагањем цигаретама. Такође, потенцијал ENDS-а да изазове инфламацију промовисањем антиген-презентујућих способности макрофага и дендритских ћелија изложених аеросолу, као и појачаном секрецијом про-инфламаторних цитокина посредовану активацијом инфламасома NLRP3 у неутрофилима и макрофагима, нижи је у поређењу са цигаретама. Самим тим, мишеви изложени ENDS-у су развили благу респираторну

дисфункцију, док су мишеви изложени цигаретама развили озбиљно оштећење плућа. Сprovedена студија је прва која испитује ефекте цигарета и ENDS -а на имунске ћелије у хроничној инфламацији плућа. Добијени резултати су показали да ENDS поседују мањи потенцијал да изазову снажан инфламацијски одговор у плућима него цигарете.

**Кључне речи:** цигарете, електронски системи за испоруку никотина, имунске ћелије, оштећење и инфламација плућа.

**Истраживање је финансирано средствима:** Ова студија је финансирана грантом Фондације за свет без дима (*Foundation for a Smoke-Free World, Inc.* ("FSFW"), a US *nonprofit* 501(c)(3), *independent global organization*, грант бр. В3-032 који је примио В.В.). Мисија FSFW је да прекине пушење у овој генерацији. Садржај, избор и презентација чињеница, као и сва мишљења која су овде изражена, искључива су одговорност аутора и ни под којим околностима неће се сматрати да одражавају ставове Фондације за свет без дима.

# AN IMPACT OF COMBUSTIBLE CIGARETTES AND ELECTRONIC NICOTINE DELIVERY DEVICES ON IMMUNE CELL-DRIVEN LUNG INJURY IN MICE

Nikolina Kastratovic<sup>1</sup>, Vladimir Markovic<sup>1</sup>, Aleksandar Arsenijevic<sup>1</sup>, Ana Volarevic<sup>1</sup>,  
Milica Dimitrijevic Stojanovic<sup>2</sup>, Aleksandar Acovic<sup>3</sup> and Vladislav Volarevic<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center for harm reduction of biological and chemical hazards, Faculty of Medical Sciences,  
University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>2</sup>Department of Pathology, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

<sup>3</sup>Department of Dentistry, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia

## ABSTRACT

Long-term use of combustible cigarettes and electronic nicotine delivery devices (ENDS) undoubtedly impairs the health of the smokers themselves, as well as individuals from the environment who are exposed to tobacco smoke. The effect of cigarettes and ENDS was investigated in a murine model of chronic lung inflammation, where the focus of the experiments was aimed at examining changes in molecular and cellular pathways of inflammation. The methodology required to examine the effects of cigarettes and ENDS on lung inflammation, or more exactly, on the phenotype and function of immune cells responsible for the onset and progression of inflammation, included various experimental methods: analysis of lung function parameters, histology, ELISA and flow cytometry. A significant change in the systemic inflammatory response was detected between the experimental (CCs- and ENDS-exposed mice) and control (air-exposed mice) groups. A non-negligible difference in the strength of the immune response was detected between the experimental groups: ENDS-exposed mice developed alleviated inflammation, which resulted in less severe morphological and functional lung damage. Additionally, ENDS-exposed mice had lower serum concentrations of inflammatory cytokines compared to CCs-exposed mice. At the lung level, there is less recruitment of circulating leukocytes to the site of inflammation when mice are exposed to ENDS compared to cigarette exposure. Also, the potential of ENDS to induce inflammation by promoting the antigen-presenting abilities of aerosol-exposed macrophages and dendritic cells, as well as enhanced secretion of pro-inflammatory cytokines mediated by NLRP3 inflammasome activation in neutrophils and macrophages, is lower compared to potential of cigarettes. Therefore, mice exposed to ENDS developed mild respiratory dysfunction, while mice exposed to cigarettes developed severe lung damage. The conducted study is the first to examine the effects of cigarettes and ENDS on immune cells in chronic lung inflammation. The obtained results showed that ENDS have a lower potential to cause a strong inflammatory response in the lungs compared to cigarettes.

**Key words:** cigarettes; electronic nicotine delivery systems; immune cells; lung injury and inflammation

**Funding:** This study was funded with a grant from the Foundation for a Smoke-Free World, Inc. (“FSFW”), a US nonprofit 501(c)(3), independent global organization (the grant No. W3-032 received by VV). FSFW’s mission is to end smoking in this generation. The contents, selection, and presentation of facts, as well as any opinions expressed herein are the sole responsibility of the authors and under no circumstances shall be regarded as reflecting the positions of the Foundation for a Smoke-Free World, Inc.

# ИСПИТИВАЊЕ ИНТЕРАКЦИЈА ОДАБРАНИХ СИНТЕТИЧКИХ ПСИХОАКТИВНИХ СУПСТАНЦИ И ЊИХОВИХ ПРЕКУРСОРА У ВОДЕНИМ РАСТВОРИМА

Сања Белић<sup>1</sup>, Милан Вранеш<sup>1</sup>, Ненад Јанковић<sup>2</sup>, Снежана Паповић<sup>1</sup>, Јована Панић<sup>1</sup>,  
Николет Цако Багањ<sup>1</sup>, Теона Теодора Боровић<sup>1</sup> и Слободан Гацурић<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Универзитет у Новом Саду – Природно-математички факултет, Нови Сад, Србија

<sup>2</sup> Универзитет у Крајеву – Департаман за хемију, Крајеву, Србија

## САЖЕТАК

Експериментална мерења густине и вискозности у воденим растворима: МДМА-НСl, метамфетамин-НСl, N-етилпентилон, ефедрин-НСl, МДМА-НСl + 0,1 mol·kg<sup>-1</sup> D-лактоза и ефедрин-НСl + 0,1 mol·kg<sup>-1</sup> D-лактоза су испитивани у различитим температурним и концентрационим опсезима: од (293,15 до 313,15) К и од (0,05 до 0,5) mol·kg<sup>-1</sup>. У циљу проучавања интеракција између растворене супстанце и растварача, поред добијених експерименталних резултата урађена су и одговарајућа израчунавања: привидне моларне запремине, привидне моларне запремине при бесконачном разблажењу, Хеплеров коефицијент, В-коефицијент вискозности за испитиване системе и разматрана су њихова структурна својства (*structure making/breaking properties*). Укуси испитиваних система су процењени преко израчунатих вредности привидних специфичних моларних запремина при бесконачном разблажењу. Утврђено је да сви проучавани системи имају *structure making* својства (системи са лактозом имају атипичне *structure making* особине), што указује на смањење покретљивости молекула воде и појаву горког укуса. Додавањем лактозе у ове системе горак укус постаје израженији у поређењу са чистим системима у води. Спектрофлуорометријска мерења у комбинацији са рачунарским симулацијама и молекуларним моделовањем урађена су за поједине испитиване водене системе. Такође, испитивана је интермолекуларна деактивација комплекса етидијум бромид (ЕБ) са ДНК у присуству N-етилпентилона. Добијени резултати су указали на добар афинитет и ефикасност N-етилпентилона да замени ЕБ из ЕБ-ДНК комплекса. Користећи молекулско моделовање, откривено је да енергија везивања добијена за N-етилпентилон указује на његов већи афинитет за везивање са ДНК, у поређењу са метамфетамином и амфетамином, али нижи у поређењу са МДМА. Испитивања спроведена у овом раду значајно ће допринети унапређењу разумевања терапеутског и токсиколошког потенцијала проучаваних психоактивних супстанци и њихових прекурсора.

**Кључне речи:** синтетичке психоактивне супстанце, интеракције, густина, вискозност, рачунске симулације

**Истраживање је финансирано средствима:** Научни програм Министарства науке, технолошког развоја и иновација (број програма: 451-03-68/2022-14/200125).

# EXAMINATION OF THE INTERACTIONS OF SELECTED SYNTHETIC PSYCHOACTIVE SUBSTANCES AND THEIR PRECURSORS IN AQUEOUS SOLUTIONS

Sanja Belić<sup>1</sup>, Milan Vraneš<sup>1</sup>, Nenad Janković<sup>2</sup>, Snežana Papović<sup>1</sup>, Jovana Panić<sup>1</sup>,  
Nikolett Cákó Bagány<sup>1</sup>, Teona Teodora Borović<sup>1</sup> and Slobodan Gadžurić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *University of Novi Sad – Faculty of Sciences, Novi Sad, Serbia*

<sup>2</sup> *Department of Chemistry, University of Kragujevac, Kragujevac, Serbia*

## ABSTRACT

Experimental measurements of density and viscosity for aqueous MDMA-HCl, metamphetamine-HCl, N-ethylpentylone, ephedrine-HCl, MDMA-HCl + 0,1 mol·kg<sup>-1</sup> D-lactose and ephedrine-HCl + 0,1 mol·kg<sup>-1</sup> D-lactose have been investigated in different temperature and molality ranges: from (293.15 to 313.15) K and from (0.05 to 0.5) mol·kg<sup>-1</sup>, respectively. In order to study interactions between solute and solvent, computational calculations were conducted: apparent molar volumes, apparent molar volume at infinite dilution, Hepler's coefficient and viscosity B-coefficients, their structure making/breaking properties were discussed. The tastes of investigated systems were evaluated through calculated values of apparent specific molar volumes at infinite dilution. All studied systems of selected psychoactive substances and their precursors were found to have *structure making* properties, which indicates a reduction in the mobility of water molecules and the appearance of a bitter taste. By adding lactose to these systems, the bitter taste becomes more pronounced compared to these systems in water.

Spectrofluorometric measurements in combination with computational simulations and molecular docking were carried out for the selected aqueous systems. Also, an intermolecular deactivation of ethidium bromide (EB) complex with DNA was investigated in the presence of N-ethylpentylone. Obtained results indicated good affinity and efficiency of N-ethylpentylone to substitute EB from the EB-DNA complex via intercalation mode. Using molecular docking, it was found that the binding energy obtained for N-ethylpentylone indicates its higher affinity to interact with DNA, comparing to methamphetamine and amphetamine, but lower compared to ecstasy.

The tests carried out in this work will significantly contribute to the improvement of the understanding of the therapeutic and toxicological potential of the studied psychoactive substances and their precursors.

**Key words:** synthetic psychoactive substances, interactions, density, viscosity, computational simulations

**Funding:** The acknowledgement for the support of the Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia (Grant No. 451-03-68/2022-14/200125).

# АНТИМИКРОБНА АКТИВНОСТ ДИНУКЛЕАРНИХ ПАЛАДИЈУМ(II) КОМПЛЕКСА СА АРОМАТИЧНИМ N-ХЕТЕРОЦИКЛИЧНИМ МОСТНИМ ЛИГАНДИМА

Сања Зорнић<sup>1</sup>, Бојана Симовић Марковић<sup>2</sup>, Anđela A. Franich<sup>3</sup>, Снежана Рајковић<sup>3</sup>, Марија Д. Живковић<sup>4</sup>, Небојша Арсенијевић<sup>2</sup>, Јелена Пантић<sup>2</sup>, Гордана Д. Радосављевић<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Одсек за микробиологију, Универзитетски клинички центар Крајујевац

<sup>2</sup>Центар за молекулску медицину и исцртавање мајичних ћелија, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајујевицу

<sup>3</sup>Катедра за хемију, Природно-математички факултет, Универзитет у Крајујевицу

<sup>4</sup>Катедра за фармацију, Факултет медицинских наука, Универзитет у Крајујевицу

## САЖЕТАК

Појава резистенције микроорганизама на антибиотике представља глобални здравствени проблем који захтева испитивање и увођење нових антимикуробних лекова у клиничку праксу. Антимикуробна активност комплекса паладијума(II)  $[\{Pd(en)Cl\}_2(\mu-L)](NO_3)_2$  (где је en етилендиамин, а L пиразин (Pd1), пиримидин (Pd2), пиридазин (Pd3) или феназин (Pd4)) испитана је коришћењем комерцијалних референтних сојева *Gram*-позитивних и *Gram*-негативних бактерија, као и гљивица. Минимална инхибиторна концентрација (МИК) и минимална микробицидна концентрација (ММК) одређене су бујон микродилуционом методом. Ванкомицин, цефтриаксон и флуконазол су коришћени као позитивне контроле. Најосетљивија *Gram*-позитивна бактерија на све комплексе је била *Rhodococcus equi* (МИК=15.63  $\mu\text{g/mL}$ , ММК 15.63-125  $\mu\text{g/mL}$ ). Pd2, Pd3 и Pd4, али не и Pd1, су показали значајну антимикуробну активност против бактерија *Listeria monocytogenes* (МИК 15.63-62.5  $\mu\text{g/mL}$ , ММК 31.25-62.5  $\mu\text{g/mL}$ ) и *Staphylococcus saprophyticus* (МИК=62.5  $\mu\text{g/mL}$ , ММК=62.5  $\mu\text{g/mL}$ ). Pd4 је показао бољу антимикуробну активност од осталих комплекса на *Staphylococcus epidermidis* (МИК=125  $\mu\text{g/mL}$ , ММК=125  $\mu\text{g/mL}$ ). Остале бактеријске врсте, укључујући *Gram*-негативне *Proteus mirabilis* и *Escherichia coli*, су биле резистентне на Pd1-Pd4 (МИК и ММК  $\geq 250 \mu\text{g/mL}$ ). Испитивање антигљивичне активности је показало да је *Candida albicans* најосетљивија на Pd4 (МИК=15.63  $\mu\text{g/mL}$ , ММК=15.63  $\mu\text{g/mL}$ ) и Pd3 (МИК=62.5  $\mu\text{g/mL}$ , ММК=62.5  $\mu\text{g/mL}$ ), док је активност Pd1 и Pd2 мања (МИК=125  $\mu\text{g/mL}$ , ММК=125  $\mu\text{g/mL}$ ). Pd1-Pd4 су показали малу антигљивичну активност према *Saccharomyces cerevisiae* (МИК и ММК у опсегу 250-500  $\mu\text{g/mL}$ ). Тестирани динуклеарни комплекси паладијума(II) имају варијабилну антимикуробну активност у зависности од врсте микроорганизама, док Pd4 показује најбољи антимикуробни ефекат према свим испитиваним микроорганизмима. Добијени подаци указују на значај испитивања комплекса паладијума(II) као потенцијалних антимикуробних агенаса.

**Кључне речи:** динуклеарни комплекси паладијума(II), антимикуробна активност, минимална инхибиторна концентрација, минимална микробицидна концентрација

# ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF DINUCLEAR PALLADIUM(II) COMPLEXES WITH AROMATIC N-HETEROCYCLIC BRIDGING LIGAND

Sanja Zornić<sup>1</sup>, Bojana Simović Marković<sup>2</sup>, Anđela A. Franich<sup>3</sup>, Snežana Rajković<sup>3</sup>, Marija D. Živković<sup>4</sup>,  
Nebojša Arsenijević<sup>2</sup>, Jelena Pantić<sup>2</sup>, Gordana D Radosavljević<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, University Clinical Center, Kragujevac

<sup>2</sup>Center for Molecular Medicine and Stem Cell Research, Faculty of Medical Sciences,  
University of Kragujevac

<sup>3</sup>Department of Chemistry, Faculty of Science, University of Kragujevac

<sup>4</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac

## ABSTRACT

The emergence of antibiotic resistance is a global health problem, requiring the research and implementation of new antimicrobial drugs in clinical practice. The antimicrobial activity of palladium(II) complexes  $[\{Pd(en)Cl\}_2(\mu-L)](NO_3)_2$  (en is ethylenediamine, while L is pyrazine (Pd1), pyrimidine (Pd2), pyridazine (Pd3) or phenazine (Pd4)) was tested against commercial reference strains of *Gram*-positive and *Gram*-negative bacteria, as well as fungi. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum microbicidal concentration (MMC) were determined using the microdilution broth method. Vankomycin, ceftriaxone and fluconazole were used as positive controls. The most susceptible *Gram*-positive bacteria to all complexes was *Rhodococcus equi* (MIC=15.63  $\mu$ g/m, MMC 15.63-125  $\mu$ g/mL). Pd2, Pd3 and Pd4, but not Pd1, showed significant antimicrobial activity against bacteria *Listeria monocytogenes* (MIC 15.63-62.5  $\mu$ g/mL, MMC 31.25-62.5  $\mu$ g/mL) and *Staphylococcus saprophyticus* (MIC=62.5  $\mu$ g/mL, MMC=62.5  $\mu$ g/mL). Compared to other tested complexes, Pd4 exhibited better anti-bacterial effect toward *Staphylococcus epidermidis* (MIC=125  $\mu$ g/mL, MMC=125  $\mu$ g/mL). The other bacterial species, including *Gram*-negative *Proteus mirabilis* and *Escherichia coli*, were resistant to Pd1-Pd4 (MIC and MMC  $\geq$ 250  $\mu$ g/mL). The examination of antifungal activity showed that *Candida albicans* was the most susceptible to Pd4 (MIC=15.63  $\mu$ g/mL, MMC=15.63  $\mu$ g/mL) and Pd3 (MIC=62.5  $\mu$ g/mL, MMC=62.5  $\mu$ g/mL), while Pd1 and Pd2 activities were lower (MIC=125  $\mu$ g/mL, MMC=125  $\mu$ g/mL). Pd1-Pd4 showed low antifungal activity against *Saccharomyces cerevisiae* (MIC and MMC 250-500  $\mu$ g/mL). The tested dinuclear palladium(II) complexes showed variable antimicrobial activity depending on microorganism species, while Pd4 exhibited the highest antimicrobial effect against all tested microorganisms. The obtained data indicate the importance of examining palladium(II) complexes as potential antimicrobial agents.

**Key words:** dinuclear palladium(II) complexes, antimicrobial activity, minimum inhibitory concentration, minimum microbicidal concentration

# IN VITRO БИОЛОШКА ЕВАЛУАЦИЈА АНАЛОГА DI- TERT-БУТИЛФЕНОЛА НА БАЗИ P-КАРБОРАНА

Сања Јелача<sup>1</sup>, Себастијан Браун<sup>2</sup>, Сања Мијатовић<sup>1</sup>, Евамарија Хеј-Хокинс<sup>2</sup>,  
Данијела Максимовић-Иванић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Одељење за имунологију, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од Националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија  
<sup>2</sup>Институт за неорганску хемију, Универзитет у Лајпцигу, Лајпциг, Немачка

## САЖЕТАК

Таргетовање медијатора инфламације као што су циклооксигеназа-2 (COX) и 5-липксигеназа (5-LO) може бити обећавајућа стратегија у лечењу канцера. У циљу побољшања селективности, карборан је уграђен у комерцијалне двоструке инхибиторе COX-2/5-LO. У овој студији, процењена је антитуморска активност деривата di-tert-бутилфенола (R-830, КМЕ-4, Е-5110, and S-2474) и њихових одговарајућих аналога карборана (R-830-Cb, КМЕ-4-Cb, Е-5110-Cb, S-2474-Cb) на панелу хуманих ћелијских линија рака (A375, A549, HCT116, HT-29, and MDA-MB-231). Третман дериватима di-tert-бутилфенола смањило је вијабилност свих ћелија рака на дозно зависан начин након 72 h. Истовремено, уградња p-карборан групе је резултирала смањењем цитотоксичног потенцијала за све тестиране аналоге карборана, осим R-830-Cb. Стога су за даље испитивање потенцијалног механизма деловања одабрани R-830 и његов карборан аналог R-830-Cb. За разлику од R-830, његов карборански пандан није утицао на вијабилитет ћелија примарног перитонеалног ексудата, што указује да је уградња карборана побољшала селективност према малигном фенотипу. Смањење вијабилности туморских ћелија изазвано R-830-Cb је праћено губитком деобног потенцијала, док је одређени проценат HCT116 ћелија био подвргнут програмираној ћелијској смрти зависном од каспаза. Паралелно, флуоресцентна микроскопија је открила присуство бројних ћелија са абнормалним нуклеусима и кондензованим хроматином. Даље, обустављање аутофагије употребом инхибитора аутофагије 3-метил аденина (3-MA) и хлорокина, открило је цитопротективну улогу овог процеса, компромитујући активност лека. Сви уочени ефекти били су праћени смањењем производњом реактивних врста кисеоника и азота (ROS/RNS) што указује на поремећен редокс статус ћелија као одговор на третман. Узевши заједно, аналог R-830-Cb на бази карборана је обећавајући кандидат за даљу процену антитуморског ефекта *in vivo*.

**Кључне речи:** карборан, циклооксигеназа, липксигеназа, канцер, апоптоза

**Рад је публикован:** Braun S, Jelača S, Laube M, George S, Hofmann B, Lönnecke P, Steinhilber D, Pietzsch J, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D, Hey-Hawkins E. Synthesis and In Vitro Biological Evaluation of p-Carborane-Based Di-tert-butylphenol Analogs. *Molecules*. 2023 Jun 4;28(11):4547. doi: 10.3390/molecules28114547. (IF=4.972)

**Истраживање је финансирано средствима:** Ово истраживање је финансирано од стране Министарства науке, технолошког развоја и иновација Републике Србије (бр. 451-03-47/2023-01/200007).

# IN VITRO BIOLOGICAL EVALUATION OF P-CARBORANE-BASED DI-*TERT*-BUTYLPHENOL ANALOGS

Sanja Jelača<sup>1</sup>, Sebastian Braun<sup>2</sup>, Sanja Mijatović<sup>1</sup>, Evamarie Hey-Hawkins<sup>2</sup>,  
Danijela Maksimović-Ivanić<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, Institute for Biological Research "Siniša Stanković",  
National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia

<sup>2</sup>Institut für Anorganische Chemie, Universität Leipzig, Leipzig, Germany

## ABSTRACT

Targeting inflammatory mediators, such as cyclooxygenase-2 (COX) and 5-lipoxygenase (5-LO), may be a promising strategy for the treatment of cancer. To improve the selectivity, a carborane moiety was incorporated into known dual COX-2/5-LO inhibitors. In the present study, we have evaluated the antitumor activity of di-*tert*-butylphenol derivatives (R-830, KME-4, E-5110, and S-2474) and their respective *p*-carborane analogs (R-830-Cb, KME-4-Cb, E-5110-Cb, and S-2474-Cb) on a panel of human cancer cell lines (A375, A549, HCT116, HT-29, and MDA-MB-231). Treatment with di-*tert*-butylphenol derivatives decreased the viability of all cancer cells in a dose-dependent manner after 72 h. At the same time, incorporation of a *p*-carborane moiety resulted in diminished cytotoxic potential for all tested carborane analogs, except R-830-Cb. Thus, for further investigation of the potential mechanism of action, R-830 and its *p*-carborane analog R-830-Cb were selected. Differently to R-830, its carborane counterpart did not affect the viability of primary peritoneal exudate cells, indicating that incorporation of the carborane cage improved selectivity toward the malignant phenotype. Tumor cell viability decrease triggered by R-830-Cb was followed by a loss of dividing potential, while a certain percentage of HCT116 cells was subjected to caspase-dependent programmed cell death. In parallel, fluorescent microscopy revealed the presence of numerous cells with abnormally shaped nuclei and condensed chromatin. Furthermore, abolishment of the autophagy using autophagy inhibitors 3-methyladenine (3-MA) and chloroquine, revealed a cytoprotective role of this process, compromising the activity of the drug. All observed effects were accompanied by reduced production of reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) indicating a disturbed redox status of the cells in response to the treatment. Taken together, carborane-based analog R-830-Cb is a promising candidate for further assessment of the antitumor effect *in vivo*.

**Key words:** carboranes, cyclooxygenase-2, 5-lipoxygenase, cancer, apoptosis

**The paper is published:** Braun S, Jelača S, Laube M, George S, Hofmann B, Lönnecke P, Steinhilber D, Pietzsch J, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D, Hey-Hawkins E. Synthesis and In Vitro Biological Evaluation of *p*-Carborane-Based Di-*tert*-butylphenol Analogs. *Molecules*. 2023 Jun 4;28(11):4547. doi:10.3390/molecules28114547. (IF=4.972)

**Funding:** This research was funded by the Ministry of Science, Technological Development, and Innovation of the Republic of Serbia, grant number 451-03-47/2023-01/200007.

# НУТРАЦЕУТИЦИ ХМЕЉА У СУСРЕТ ТЕРАПИЈИ МЕТАСТАТСКОГ МЕЛАНОМА

Тамара Крајновић<sup>1</sup>, Данијела Максимовић-Иванић<sup>1</sup>, Сања Мијатовић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић” –

Институт од националној значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду, Београд, Србија

## САЖЕТАК

Меланом се сматра најагресивнијим типом канцера коже. Услед иницијалне или стечене резистенције и бројних нежељених дејстава, постојећи терапеутски режими за метастатски меланом нису довољно ефикасни. Стога, меланом остаје удружен са високом стопом смртности. Упркос опсежним терапеутским протоколима, стопа излечења инвазивних облика тумора је поражавајуће ниска те се поставља питање шта је погрешно у актуелном приступу у онкотерапији. Главни критеријум за одабир нових антитуморских лекова превасходно је базиран на њиховој способности да индукују апоптозу. Међутим, све више литературних података доводе у везу агресивне терапеутске приступе који се базирају на индукцији апоптозе у туморима високог градуса, које карактерише присуство хелија слабо диферентованог фенотипа, са туморском прогресијом до које долази услед компензаторне пролиферације. Решење проблема почива у повећању нивоа диференцијације тумора чиме ће опадати пролиферација индукована апоптозом. Диференцијациона терапија представља нови концепт у терапији агресивних малигнитета. Многи диференцијациони агенси су природног порекла. У циљу повећања ефикасности и смањења токсичности конвенционалних терапија, стандардни терапеутски протоколи се често комбинују са комплементарном медицином, где водећу позицију заузимају природни производи изоловани из биљака. Једну од највећих и најразноврснијих класа секундарних биљних метаболита која се одликује израженим антиканцерским потенцијалом представљају флавоноиди. Пренилфлавоноиди из хмеља имају велики потенцијал да изазову промену малигног фенотипа у мирнији, функционално дефинисанији облик, ближи здравом пандану истог или различитог ткива. Овакав приступ недовољно је истражен чиме се отварају многе могућности како у научном тако и у комерцијалном смислу. Фокус овог предавања је стављен на пренилфлавоноид-изоксантохумол у контексту евентуалне терапије меланомом и креирања протокола који би подigli ефикасност постојећих третмана комерцијалним хемотерапеутицима.

**Кључне речи:** меланом, пренилфлавоноиди, хемотерапија, диференцијација

## Рад је публикован:

1. Krajnović T, Drača D, Kaluđerović GN, Dunderović D, Mirkov I, Wessjohann LA,

Maksimović-Ivanić D, Mijatović S. The hop-derived prenylflavonoid isoxanthohumol inhibits the formation of lung metastasis in B16-F10 murine melanoma model. *Food Chem Toxicol.* 2019 July; 129:257-268. doi: 10.1016/j.fct.2019.04.046. (IF<sub>2019</sub>=4.679)

2. Krajnović T, Kaluđerović GN, Wessjohann LA, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D. Versatile antitumor potential of isoxanthohumol: Enhancement of paclitaxel activity in vivo. *Pharmacol Res.* 2016 Mar;105:62-73. doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.011. (IF<sub>2015</sub>=4.816)

**Истраживање је финансирано средствима:** Министарство науке, технолошког развоја и иновација Републике Србије (451-03-47/2023-01/200007), Лајбниц институт за биљну биохемију, Хале, из Немачке службе за академску размену (ДААД) и Хошштајнер (Simon H. Steiner Hopfen GmbH)

# NUTRACEUTICALS FROM HOPS IN THE TREATMENT OF METASTATIC MELANOMA

Tamara Krajnović<sup>1</sup>, Danijela Maksimović-Ivanić<sup>1</sup>, Sanja Mijatović<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Institute for Biological Research "Siniša Stanković" – National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade, Serbia*

## ABSTRACT

Melanoma is considered the most aggressive type of skin cancer. Due to initial or acquired resistance and numerous side effects, existing therapeutic regimens for metastatic melanoma are not sufficiently effective. Therefore, melanoma remains associated with a high mortality rate. Despite extensive therapeutic protocols, the curation rate for invasive forms of tumors is quite low, and the question arises as to what is wrong with the current approach in oncotherapy. The main criterion for the selection of new antitumor drugs is primarily based on their ability to induce apoptosis. However, numerous literature data link aggressive therapeutic approaches based on the induction of apoptosis in high-grade tumors, which are characterized by the presence of cells with a low-differentiated phenotype, with tumor progression that occurs due to compensatory proliferation. The solution to the problem lies in increasing the level of tumor differentiation, which will decrease proliferation induced by apoptosis. Differentiation therapy represents a new concept in the therapy of aggressive malignancies. Many differentiation agents are of natural origin. In order to increase the efficacy and reduce the toxicity of conventional therapies, standard therapeutic protocols are often combined with complementary medicine, where the leading position is occupied by natural products isolated from plants. Flavonoids are one of the largest and most diverse classes of secondary plant metabolites, well-known for their pronounced anticancer potential. Prenylflavonoids from the hop plant have a great potential to trigger a change of the malignant phenotype into a quiescent, more functionally defined form, closer to the healthy counterpart of the same or different tissue. This approach has mainly been unexplored, opening up many possibilities in both scientific and commercial terms. The focus of this lecture will be on prenylflavonoid- isoxanthohumol in the context of possible melanoma therapy and the creation of protocols that would increase the effectiveness of existing conventional chemotherapy.

**Key words:** melanoma, prenylflavonoids, chemotherapy, differentiation

### The paper is published:

1. Krajnović T, Drača D, Kaluđerović GN, Dunderović D, Mirkov I, Wessjohann LA, Maksimović-Ivanić D, Mijatović S. The hop-derived prenylflavonoid isoxanthohumol inhibits the formation of lung

metastasis in B16-F10 murine melanoma model. *Food Chem Toxicol.* 2019 July; 129:257-268. doi: 10.1016/j.fct.2019.04.046. (IF<sub>2019</sub>=4.679)

2. Krajnović T, Kaluđerović GN, Wessjohann LA, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D. Versatile antitumor potential of isoxanthohumol: Enhancement of paclitaxel activity in vivo. *Pharmacol Res.* 2016 Mar;105:62-73. doi: 10.1016/j.phrs.2016.01.011. (IF<sub>2015</sub>=4.816)

**Funding:** Ministry of Science, Technological Development, and Innovation of the Republic of Serbia (451-03-47/2023-01/200007), Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Halle, from the German Academic Exchange Service (DAAD), and Hopsteiner (Simon H. Steiner Hopfen GmbH).

# АНТИТУМОРСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ ИЗОНИМЕСУЛИДА И ЊЕГОВИХ ДЕРИВАТА КАРБОРАНА

Теодора Комазец<sup>1</sup>, Лиридона Усеини<sup>2</sup>, Сања Мијатовић<sup>1</sup>, Евамарија Хеј-Хокинс<sup>2</sup>,  
Данијела Максимовић-Иванић<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Одељење за имунологију, Институт за биолошка истраживања „Синиша Сijanковић”,  
Национални институт Републике Србије, Универзитет у Београду, Београд; Србија

<sup>2</sup>Факултет за хемију и минералогију, Институт за неорганску хемију,  
Универзитет у Лајпцигу, Лајпциг; Немачка

## САЖЕТАК

Нестероидни антиинфламаторни лекови (НСАИЛ) у које између осталог спада нимесулид показали су анти туморски ефекат против различитих типова туморских ћелијских линија. Потенцијални цитотоксични ефекат изонимесулида, члана породице нимесулида, и његових деривата карборана одређен је на HT29, HCT116, MCF-7, A375 и A549 хуманим ћелијским линијама. Вијабилност свих тестираних ћелијских линија је дозно-зависно смањена, што је показано МТТ и CV тестовима. Селективност ових једињења према туморском фенотипу је показана на MRC-5 ћелијама и ћелијама перитонеалног ексудата миша, под идентичним експерименталним условима. Проточна цитофлуотометријска анализа је открила значајно смањење деобног потенцијала MCF-7 ћелија, након третмана изонимесулидом и његовим одабраним дериватима карборана (4a и 4b). Показано је да су карборански деривати изонимесулида изазвали снажну апоптозу која није била посредована активацијом каспазе. Са друге стране, изонимесулид је покренуо апоптозу посредовану активацијом каспаза и смањио пролиферацију знатно нижом стопом од његових карборанских деривата. У даљем истраживању апоптозу потврђујемо пропидијум јодид бојењем MCF-7 ћелија применом флуоресцентне микроскопије. Код третираних ћелија уочавамо интензивну апоптозу која се манифестује неправилним обликом једара и кондензацијом хроматина. Коначно, инхибирана производња реактивних врста кисеоника и азота примећена је само у случају деривата 4b. Нове карактеристике изонимесулида и његових деривата карборана огледају се у њиховом снажном анти туморском потенцијалу, што отвара бројне могућности за даља истраживања.

**Кључне речи:** канцер, изонимесулид, деривати карборана, анти туморски потенцијал

**Рад је публикован:** Isonimesulide and Its Carborane Analogues as Isoform-Selective COX Inhibitors and Antitumor Agents. *Advanced Therapeutics*. Useini L, Komazec T, Laube M, Lönnecke P, Schädlich J, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D, Pietzsch J, and Hey-Hawkins E. 2023, 2300117. doi.org/10.1002/adtp.202300117. Epub 24 May 2023. (IF=5,003)

**Истраживање је финансирано средствима:** Министарство науке, технолошког развоја и иновација Републике Србије (451-03-47/2023-01/200007), Лајбниц институт за биљну биохемију, Хале, из Немачке службе за академску размену (ДААД) и Хопштајнер (Simon H. Steiner Hopfen GmbH)

# ANTITUMOR POTENTIAL OF ISONIMESULIDE AND ITS CARBORANE DERIVATIVES

Teodora Komazec<sup>1</sup>, Liridona Useini<sup>2</sup>, Sanja Mijatović<sup>1</sup>, Evamarie Hey-Hawkins<sup>2</sup>,  
Danijela Maksimović-Ivanić<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Immunology, Institute for Biological Research "Siniša Stanković", National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, Belgrade; Serbia

<sup>2</sup> Faculty of Chemistry and Mineralogy, Institute of Inorganic Chemistry, Leipzig University, Leipzig; Germany

## ABSTRACT

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) such as nimesulide have shown antitumor effects against different types of tumor cell lines. The potential cytotoxic effect of isonimesulide, a member of the nimesulide family, and its carborane derivatives was determined against HT29, HCT116, MCF-7, A375, and A549 human cell lines. The viability of all tested cell lines was dose-dependently decreased as shown by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide and crystal violet assays. The selectivity of these compounds toward a tumor phenotype was demonstrated on MRC-5 and peritoneal exudate cells under identical experimental conditions. Flow cytometric analysis revealed a significant reduction in the division potential of MCF-7 cells treated with isonimesulide and two selected carborane derivatives (4a and 4b). Subsequently, isonimesulide carborane derivatives induced strong apoptosis which was not mediated by caspase activation. On the other hand, isonimesulide initiated caspase-mediated apoptosis and reduced proliferation at a significantly lower rate than its carborane derivatives. In further investigations, intensive apoptosis manifested with the irregular shape of nuclei, and chromatin condensation was confirmed by propidium iodide (PI) staining of treated MCF-7 cells using fluorescent microscopy. Finally, the inhibited production of reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS) was observed only in the case of 4b. The new features of isonimesulide and its carborane derivatives are reflected in their strong antitumor potential, which opens numerous possibilities for further research.

**Key words:** cancer, isonimesulide, carborane derivatives, antitumor potential

**The paper is published:** Isonimesulide and Its Carborane Analogues as Isoform-Selective COX Inhibitors and Antitumor Agents. *Advanced Therapeutics*. Useini L, Komazec T, Laube M, Lönnecke P, Schädlich J, Mijatović S, Maksimović-Ivanić D, Pietzsch J, and Hey-Hawkins E. 2023, 2300117. doi.org/10.1002/adtp.202300117. Epub 24 May 2023. (IF=5,003)

**Funding:** This study was supported by the Ministry of Science, Technological Development, and Innovation of the Republic of Serbia, Grant No. 451-03-47/2023-01/200007



# ИМУНОМОДУЛАЦИЈСКА СВОЈСТВА ПРИРОДНИХ ЦЕЛУЛОЗНИХ НАНОКРИСТАЛА

Милош Васиљевић<sup>1</sup>, Марина Бекић<sup>2</sup>, Душица Стојановић<sup>3</sup>, Вања Кокол<sup>4</sup>, Душан Михајловић<sup>1</sup>, Драгана Вучевић<sup>1,2</sup>, Петар Ускоковић<sup>3</sup>, Миодраг Чолић<sup>1,2,5</sup>, Сергеј Томић<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Универзитет у Источном Сарајеву, Медицински факултет Фоча, Фоча, БиХ-РС

<sup>2</sup>Универзитет у Београду, Институт за примену нуклеарне енергије, Београд, Србија

<sup>3</sup>Универзитет у Београду, Технолошко-металуршки факултет, Београд, Србија

<sup>4</sup>Универзитет у Марибору, Машински факултет, Марибор, Словенија

<sup>5</sup>Српска академија наука и уметности, Београд, Србија

## САЖЕТАК

Наноцелулоза (NC) привлачи доста пажње последњих неколико година, посебно када је у питању биомедицинска примјена. У том смислу су од значаја њена примјена у виду антибактеријског средства, потом у областима ткивног инжињеринга, зарастања рана, доставе лијекова и терапије тумора. Међутим, имуномодулативна својства NC, а посебно се то односи на целулозне нанокристале (CNC), су до сада недовољно испитана. Оно што CNC издваја у односу на друге биоматеријале, укључујући и друге типове NC, су веома пожељна физичко-хемијска својства, доступност извора и јефтин процес производње. Циљеви истраживања су били да се: испита цитотоксичност CNC на моделу хуманих моноклеарних ћелија периферне крви (PBMNC); одреди дозно зависни ефекат нецитотоксичних концентрација CNC на функционална својства PBMNC; анализира ефекат нецитотоксичних концентрација CNC на диферентовање моноцита периферне крви у дендритске ћелије (moDC) и њихово сазријевање; испита ефекат нецитотоксичних концентрација CNC на функционална својства moDC. На моделу PBMNC је анализирана цитотоксичност CNC и модулација пролиферације и продукције цитокина индукованих поликлонским стимулатором. Интернализација CNC је проучавана на истом моделу флуоресцентном микроскопијом након припреме цитоспин препарата. Имуномодулативни ефекти CNC на антиген презентујуће ћелије (APC) су испитивани на моделу moDC и алогених Т лимфоцита. Фенотипске карактеристике moDC и Т ћелија су одређиване проточном цитометријом. Функцијска карактеризација moDC и Т ћелија је одређивана тестом алогене мијешане леукоцитне реакције и анализом цитокина. Резултати су показали да нецитотоксичне дозе CNC ( $\leq 400 \mu\text{g/ml}$ ) поред супресије пролиферације PBMNC, инхибирају и продукцију TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2 и IL-1 $\beta$  од стране PBMNC. Са друге стране показана је стимулација продукције IL-6, IL-17 и IL-10 у културама ових ћелија. Анализа интеракције CNC и PBMNC је утврдила да лимфоцити не интернализују CNC за разлику од моноцита/макрофага и DC.

CNC су смањили капацитет диференцијације моDC с обзиром на већу експресију CD14 и CD209, односно мању експресију CD1a од стране моDC диферентованих у присуству CNC у поређењу са контролним моDC. CNC су модификовали сазријевање моDC у присуству LPS/IFN- $\gamma$ . Наиме, моDC диферентоване у присуству CNC су мање испољавале CD83 након стимулације LPS/IFN- $\gamma$  у поређењу са контролним моDC. Са друге стране, ове ћелије су HLA-DR експримирале у већој мјери у односу на контролне моDC. Експресија CD86 и CD40 није била значајније модификована у поређењу са контролним моDC. Такође, показан је стимулативни ефекат CNC на толерогени потенцијал моDC. моDC диферентоване у присуству CNC су више испољавале толерогене маркере (PD-L1, ILT-3, IDO-1, IL-33 и IL-10) у поређењу са контролним моDC. Уочено је смањење концентрације IL-1 $\beta$ , IL-12 и IL-23, а повећање концентрације IL-10 и IL-27 у супернатантима култура моDC диферентованих у присуству CNC у односу на контролне моDC. моDC диферентоване у присуству CNC су усмјеравале Th одговор у правцу Th2 и регулаторних T ћелија (Treg), а инхибирале Th1 и Th17 поларизацију T ћелија. Ови резултати јасно указују да CNC модулирају имунски одговор потенцирањем толерогених својстава DC. Имуномодулацијска својства CNC захваљујући којима CNC посједују изузетан имуноterapiјски потенцијал, могу бити искориштена не само на пољу ткивног инжињеринга већ и за дизајнирање нових платформи у терапији болести у којима је неопходно постићи добро контролисану и DC-посредовану индукцију толеранце.

**Кључне речи:** целулозни нанокристали, дендритске ћелије, имуномодулација, T ћелије

Рад је публикован: Bekić M, Vasiljević M, Stojanović D, Kokol V, Mihajlović D, Vučević D, Uskoković P, Čolić M, Tomić S. Phosphonate-Modified Cellulose Nanocrystals Potentiate the Th1 Polarising Capacity of Monocyte-Derived Dendritic Cells via GABA-B Receptor. *Int J Nanomedicine*. 2022 Jul 23;17:3191-3216. doi: 10.2147/IJN.S362038. (IF=7.033)

# IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF NATIVE CELLULOSE NANOCRYSTALS

Miloš Vasiljević<sup>1</sup>, Marina Bekić<sup>2</sup>, Dušica Stojanović<sup>3</sup>, Vanja Kokol<sup>4</sup>, Dušan Mihajlović<sup>1</sup>, Dragana Vučević<sup>1,2</sup>, Petar Uskoković<sup>3</sup>, Miodrag Čolić<sup>1,2,5</sup>, Sergej Tomić<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>University of East Sarajevo, Medical Faculty Foca, Foca, Republic of Srpska, Bosnia and Herzegovina

<sup>2</sup>University of Belgrade, Institute for Application of Nuclear Energy, Belgrade, Serbia

<sup>3</sup>University of Belgrade, Faculty for Technology and Metallurgy, Belgrade, Serbia

<sup>4</sup>University of Maribor, Faculty of Mechanical Engineering, Maribor, Slovenia

<sup>5</sup>Serbian Academy of Sciences and Arts, Belgrade, Serbia

## ABSTRACT

Nanocellulose (NC) has attracted considerable attention in recent years, particularly in the field of biomedical applications. In that sense, its application as an antibacterial agent, as well as in tissue engineering, wound healing, drug delivery and tumor therapy is of significant importance. However, the immunomodulatory properties of NC, specifically cellulose nanocrystals (CNC), have not been investigated thoroughly. CNC possess highly desirable physicochemical properties, source availability and a cost-effective production process that sets them apart from other biomaterials, including other types of NC. The research objectives were to: examine the cytotoxicity of CNC on a model of human peripheral blood mononuclear cells (PBMNC); determine the dose-dependent effect of non-cytotoxic concentrations of CNC on the functional properties of PBMNC; analyze the effect of non-cytotoxic concentrations of CNC on the differentiation of peripheral blood monocytes into dendritic cells (moDC) and their maturation; investigate the effect of non-cytotoxic concentrations of CNC on the functional properties of moDC. Cytotoxicity of CNC and modulation of proliferation and cytokine production induced by polyclonal stimulator were analyzed on the PBMNC model. The internalization of CNC was studied on the same model by fluorescent microscopy after preparation of cytospin preparations. The immunomodulatory effects of CNC on antigen-presenting cells (APC) were examined on the moDC and allogenic T cells model. The phenotypic characteristics of moDC and T cells were determined by flow cytometry. The functional characterization of moDC and T cells was determined by the allogenic mixed leukocyte reaction assay and cytokines analysis. The results showed that non-cytotoxic doses of CNC ( $\leq 400 \mu\text{g/ml}$ ) not only suppressed PBMNC proliferation but also inhibited the production of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, and IL-1 $\beta$  by PBMNC. Analysis of the interaction between CNC and PBMNC revealed that lymphocytes did not internalize CNC, unlike monocytes/macrophages and DC. CNC reduced the differentiation capacity of moDC, as evidenced by higher expression of CD14 and CD209 and lower expression of CD1a by moDC differentiated in the presence of CNC compared to control moDC. CNC also modulated the maturation of moDC in the presence of LPS/IFN- $\gamma$ . Specifically, moDC

differentiated in the presence of CNC showed lower CD83 expression after LPS/IFN- $\gamma$  stimulation compared to control moDC. In contrast, these cells expressed HLA-DR more than control moDC. The expression of CD86 and CD40 was not significantly modified compared to control moDC. Additionally, a stimulatory effect of CNC on the tolerogenic potential of moDC was demonstrated. moDC differentiated in the presence of CNC expressed higher level of tolerogenic markers (PD-L1, ILT-3, IDO-1, IL-33 and IL-10) compared to control moDC. A significant decrease in the concentration of IL-1 $\beta$ , IL-12, IL-23 and an increase in the concentration of IL-10 and IL-27 was detected in the supernatants of moDC cultures differentiated in the presence of CNC compared to control moDC. moDC differentiated in the presence of CNC directed the T-cell response towards Th2 and regulatory T cells (Treg) and inhibited Th1 and Th17 polarization of T cells. These results clearly indicate that CNC modulates the immune response by enhancing the tolerogenic properties of DC. The immunomodulatory properties of CNC, which contribute to its exceptional immunotherapeutic potential, can be utilized not only in tissue engineering but also in the design of novel platforms for diseases where well-controlled and DC-mediated induction of tolerance is necessary.

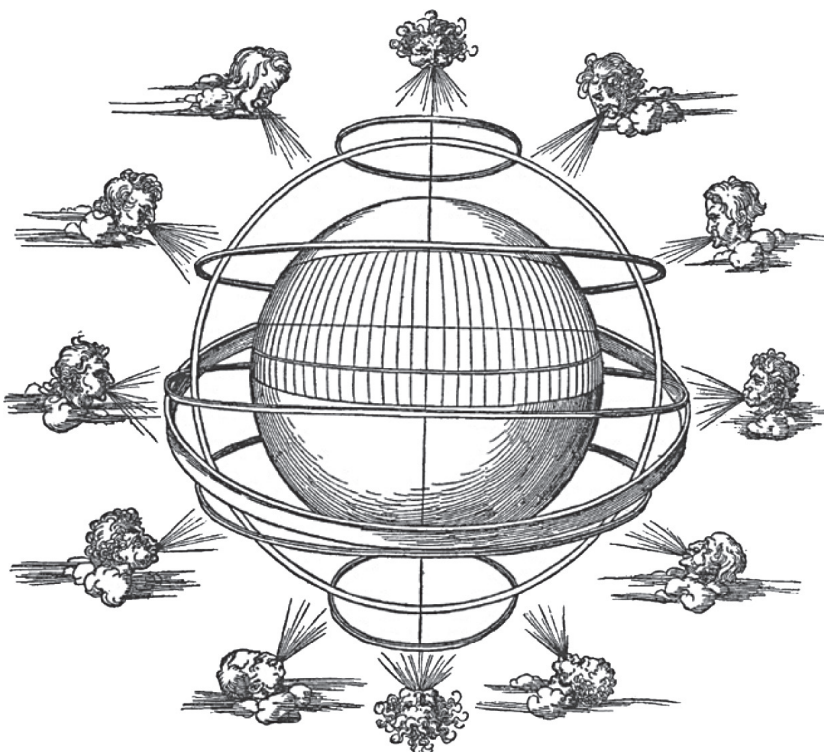
**Key words:** cellulose nanocrystals, dendritic cells, immunomodulation, T cells

**The paper is published:** Bekić M, Vasiljević M, Stojanović D, Kokol V, Mihajlović D, Vučević D, Uskoković P, Čolić M, Tomić S. Phosphonate-Modified Cellulose Nanocrystals Potentiate the Th1 Polarising Capacity of Monocyte-Derived Dendritic Cells via GABA-B Receptor. *Int J Nanomedicine*. 2022 Jul 23;17:3191-3216. doi: 10.2147/IJN.S362038. (IF=7.033)

## СПИСАК АУТОРА

Александар Арсенијевић	Дејан Иванов
Александар Ацовић	Драгана Арсенијевић
Александр Казимир	Драгана Папић
Ана Воларевић	Драгица Павловић
Ана Рилак Симовић	Душан Лалошевић
Андреа Николић	Душан Марић
Андриана М. Букоњић	Душан Михајловић
Анђела Мандић	Душан Љ. Томовић
Анђела Петровић	Ђорђе С. Петровић
Анђела Франић	Евamarие Хеј-Хокинс
Биљана Шмит	Едина Авдовић
Благоје Мурганић	Екатарина Михајловић
Бојан Стојановић	Зорана Марић Остовић
Бојана Симовић Марковић	Зорка Миловановић
Бојана Стојановић	Иван Јаковљевић
Валентина Исаковић	Иван Јовановић
Вања Малиш	Ивана Ковачевић
Велимир Попсавин	Ивана Д. Радојевић
Вељко Марић	Игор Спурнић
Верица В. Јевтић	Ирена Јованић
Весна Којић	Ирфан Ђоровић
Весна Лалошевић	Исидора Станисављевић
Весна Мијатовић Јовин	Јелена Д. Димитријевић
Весна Росић	Јелена Кесић
Владан Тривуновић	Јелена З. Миловановић
Владимир Марковић	Јелена Пантић
Владислав Воларевић	Јакоб Кљун
Вук Врачар	Јована Панић
Горан Бенедковић	Јована Француз
Горан Ђенадић	Јошихиро Хајакава
Гордана Козодеровић	Кемал Ђоровић
Гордана П. Радић	Лидија Алексић
Гордана Д. Радосављевић	Лиридона Усеини
Данијела Максимовић-Иванић	Лоренцо Бјанкалана
Данијела Петровић	Лоренцо Кјаверини
Данијела Љ. Стојковић	Љиљана Козић
Данило Војводић	Љубинка Јоксовић
Даница Цујић	Маја Б. Ђукић
Даринка Поповић	Маја Ружић
Дејан Бокоњић	Маја Коленовић Серезлић

Марија Дракул	Немања Живановић
Марија Живковић	Ненад Јанковић
Марија Јеремић	Никола Танић
Марија Лесјак	Николет Цако Багањ
Марија Мојић	Николина Кастратовић
Марија З. Миловановић	Ружица Лукић
Марија Сакач	Сандра С. Јовичић Милић
Марина Јовановић	Сања Белић
Милан Вранеш	Сања Ђокић
Милан Јовановић	Сања Зорнић
Милена Јуришевић	Сања Јелача
Милица Димитријевић Стојановић	Сања Љ. Матић
Милица Међедовић	Сања Мијатовић
Милица Недељковић	Сара Ракочевић
Милош Арсенијевић	Сатору Јокојама
Миодраг Јоцић	Себастијан Браун
Миодраг Чолић	Сиска Уће
Мирјана Живојинов	Слађана Павловић
Мирјана Милинковић	Слободан Гаџурић
Мирјана Попсавин	Слободанка Митровић
Наталиа Соловјова	Снежана Паповић
Наста Танић	Снежана Рајковић
Наташа Здравковић	Срђан Вујиновић
Наташа Медић-Милијић	Стефано Закини
Наташа Миладиновић-Тасић	Сузана Јовановић-Шанта
Наташа Симин	Тамара Крајновић
Небојша Арсенијевић	Тања В. Солдатовић
Невена Видојевић	Татјана Кањевац
Невена Гајовић	Теодора Комазец
Невена Михаиловић	Теона Теодора Боровић
Нејла Адемовић	Фабио Марчети





CIP - Каталогизација у публикацији Народна библиотека Србије, Београд

616(048)

57+61(048)

СРПСКИ конгрес молекулске медицине (2 ; 2023 ; Фоча)

Књига сажетака / Други Српски конгрес молекулске медицине, Фоча, 6-8. октобра 2023. ; [уредник Небојша Арсенијевић] = Abstract Book / The second Serbian Molecular Medicine Congress, October, 6-8. 2023. Фоча ; [editor Nebojsa Arsenijevic]. - Крагујевац : Српско друштво за имунологију, молекулску онкологију и регенеративну медицину, 2023 (Крагујевац : Српско друштво за имунологију, молекулску онкологију и регенеративну медицину). - 89 стр. : илустр. ; 25 cm

Апстрактни на срп. и енгл. језику. - Тираж 30.

ISBN 978-86-904000-2-7

а) Медицина -- Апстрактни б) Биомедицинска истраживања -- Апстрактни

COBISS.SR-ID 125449481

