



# '21

# ХЕМИЈСКИ ПРЕГЛЕД

год. 62  
бр. 3 (јун)

YU ISSN 04406826  
UDC 54.011.93



Хемијски Преглед  
[www.shd.org.rs/hp.htm](http://www.shd.org.rs/hp.htm)

90 година од смрти  
**Косије  
Николића**  
(1844-1931)

и 70 година од смрти  
**Свењозара  
Јовановића**  
(1895-1951)

**Први доктори  
хемије у Србији**

српско хемијско друштво

# ХЕМИЈСКИ ПРЕГЛЕД CHEMICAL REVIEW



Годиште 62

број 3  
јун

Editor-in-Chief  
RATKO M. JANKOV  
Deputy Editor-in-Chief  
DRAGICA TRIVIĆ

Volume 62  
NUMBER 3  
(June)

Publisher  
SERBIAN CHEMICAL SOCIETY  
Belgrade/Serbia, Karnegijeva 4

Издаје  
СРПСКО ХЕМИЈСКО ДРУШТВО

Телефон 3370-467

Карнегијева 4

излази двомесечно

ОДГОВОРНИ И ГЛАВНИ УРЕДНИК  
Ратко М. Јанков

ПОМОЋНИК ОДГОВОРНОГ И ГЛАВНОГ УРЕДНИКА  
Драгица Тривић

ЧЛАНОВИ РЕДАКЦИЈЕ  
Јелена Радосављевић, Наталија Половић и Воин Петровић

УРЕЂИВАЧКИ ОДБОР

Иван Гутман, Снежана Зарић, Јован Јовановић, Славко Кеврешан, Драган Марковић, Владимир Павловић, Радомир Саичић, Живорад Чековић (председник).

Годишња чланарина, укључује часопис „Хемијски преглед”, за 2021. годину износи:

- за све запослене и студенте докторских студија ..... 2.500,00
- за професоре у основним и средњим школама .....1.400,00
- за пензионере, студенте основних и мастер студија, ђаке и незапослене.....1.200,00
- претплата за школе и остале институције..... 5.000,00
- за чланове и институције из иностранства. .... € 70

Чланарину и претплату можете уплатити на рачун СХД:  
205-13815-62, позив на број 320.

Web site: <http://www.shd.org.rs/hp/>  
e-mail редакције: [hempred@chem.bg.ac.rs](mailto:hempred@chem.bg.ac.rs)

Припрема за штампу и штампа:  
РИЦ графичког инжењерства Технолошко-металуршког факултета Београд, Карнегијева 4

Насловна страна и Интернет верзија часописа:  
Слободан и Горан Ратковић,  
RatkovicDesign [www.ratkovicdesign.net](http://www.ratkovicdesign.net)  
[office@ratkovicdesign.net](mailto:office@ratkovicdesign.net)

## САДРЖАЈ

### ЧЛАНЦИ

Драган М. ПОПОВИЋ  
*Dragan M. POPOVIĆ*

ФОТОЛИАЗА – МОЛЕКУЛСКИ МЕХАНИЗАМ  
ОПРАВКЕ UV-ИНДУКОВАНИХ ДНК ЛЕЗИЈА  
PHOTOLYASE – MOLECULAR MECHANISM  
FOR REPAIR OF UV-DAMAGED DNA ..... 50

Александра СТЕФАНОВИЋ  
*Aleksandra STEFANOVIĆ*

ИЗМЕЂУ ЉУБАВИ И МРЖЊЕ: КАРЦИНОМ И РЕАКТИВНЕ  
ВРСТЕ UV-ИНДУКОВАНИХ ДНК ЛЕЗИЈА  
BETWEEN LOVE AND HATE: CANCER AND REACTIVE  
SPECIES ..... 62

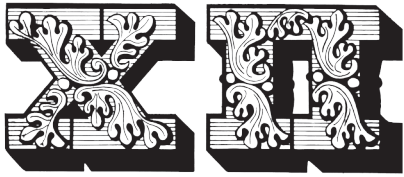
### ВЕСТИ из / за ШКОЛЕ

Катарина ИЛИЋ  
*Katarina ILIĆ*

СЦЕНАРИО ЕДУКАТИВНЕ РАДИОНИЦЕ:  
„ФОРМУЛЕ И НАЗИВИ СОЛИ“  
SCENARIO OF THE EDUCATIONAL WORKSHOP:  
„FORMULAS AND NAMES OF SALTS“ ..... 69

### ВЕСТИ ИЗ СХД

ИЗВЕШТАЈ О РАДУ СРПСКОГ ХЕМИЈСКОГ ДРУШТВА  
У 2020. ГОДИНИ ..... 70



## УВОДНИК

Прошло је више од годину дана од званичног почетка светске епидемије изазване корона вирусом. У међувремену је откривена, направљена и одобрена (не једна) вакцина против овог вируса. У тренутку настајања овог уводника, мере су ублажене тако да школе могу да организују матурске вечери и екскурзије, а у току је online 57. Саветовање Српског хемијског друштва, које због пандемије није одржано 2020. године. Можда сад имамо мало више разлога за оптимизам, поготову ако се брзо не забораве или не занемаре стечена искуства током претходног периода.

\* \* \*

Сваког дана наша ДНК се оштећује дејством UV радијације, слободним радикалима, токсичним и канцерогеним супстанцама. Међутим, и без тих негативних спољашњих утицаја, ДНК молекули *in vivo* су по својој природи нестабилни. На дневној бази дешава се хиљаде спонтаних промена на хелијском геному. Поред тога, дефекти се могу јавити и када се ДНК копира током хелијске деобе, процесом који се сваког дана у људском телу дешава неколико милиона пута. Једини разлог што се наш генетски материјал не дезинтегрише у потпуни хемијски хаос је тај што су хелије еволуцијом развиле више различитих молекулских система који непрекидно прате и врше оправке на ДНК молекулима.

Да би се одржала генетичка стабилност хелије, развиле су се заштитни механизми који оправљају различите врсте оштећења на ДНК структури, као што су одсецања и модификације азотних база или промене на шећерно-фосфатним групама, која су често изазвана UV светлошћу, јонизационим зрачењем, токсичним и канцерогеним супстанцама и загађењима из животне средине. Многи ДНК репарациони процеси код прокариотских и еукариотских хелија су веома слични. Фотолиаза отклања најчешће ДНК дефекте, настале UV (200-300 nm) зрачењем – циклобутан пиримидинске димере (CPD) и (6-4)-фотопродукте, тако што катализује цепање циклобутанског прстена CPD димера на пиримидинске мономере у ретро-Дилс-Алдеровој реакцији, иницираној блиском UV или видљивом плавом светлошћу (UV/VIS, 300-500 nm). CPD оштећења ДНК која нису поправљена и отклоњена су високо цитотоксична и изазивају мутагене и канцерогене промене у хелији на нивоу ДНК и одговарајућих протеина. Механизам рада овог ензима је познат и у доброј мери експериментално истажен. Ипак, многи термодинамички и кинетички параметри могу бити одређени само путем теоријско-рачунарских студија. У тексту „*Фоџолиаза – молекулски механизам оправке UV-индукованих ДНК лезија*“ аутора Драгана М. ПОПОВИЋА (вишег научног сарадника из Центра за хемију, ИХТМ, Универзитета у Београду) попуњен је одговор на неколико контраверзних детаља и питања, која су дуго времена била неразјашњена.

\* \* \*

У чланку „*Између љубави и мржње: карцином и реактивне врсте*“ АЛЕКСАНДРА СТЕФАНОВИЋ, студент докторских академских студија из биохемије (Катедра за биохемију, Универзитет у Београду - Хемијски факултет) упознаје нас о ефектима две главне групе хемијски веома реактивних врста пореклом од молекулског кисеоника и од азота на наше хелије, односно макромолекуле у њима. Те врсте могу бити радикалског и нерадикалског типа. Радикалске врсте карактерише постојање неспареног електрона у последњем енергетском нивоу, што их чини изузетно хемијски реактивним. Конверзијом неких нерадикалских врста могу настати радикалске врсте. И једне и друге учествују у нормалној биохемијској сигнализацији унутар хелија, што укључује регулацију експресије гена (синтеза протеина) и контролу активности насталих протеина. У веома ниским концентрацијама, реактивне врсте имају важну улогу у одбрани организма од патогена, док у већим изазивају оксидативни стрес и утичу на развој патолошких стања. Биохемијске улоге реактивних врста предмет су изучавања већ десетинама година. Истраживања су показала да оне представљају фино регулисане сигналне молекуле, који нам у једном моменту могу бити пријатељи, а већ у следећем љути непријатељи.

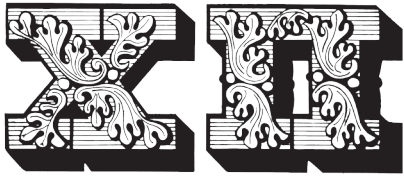
\* \* \*

Катарина ИЛИЋ, студент пете године интегрисаних основних и мастер академских студија (Катедра за наставу хемије, Универзитет у Београду - Хемијски факултет), у рубрици *Вести из/за школе Хемијској прелуда*, објавила је сценарио едукативне радионице који обухвата систематизацију знања о формулама и називима соли. Реализација радионице под насловом „*Сценарио едукативне радионице: Формуле и називи соли предвиђена је за ученике осмог разреда основне школе. У оквиру ове радионице ученици састављају формуле соли примењујући знање о валенци метала и валенци киселинског остатка и пишу називе соли.*“

\* \* \*

На крају овог броја, у рубрици *Вести из СХД* приложен је Годишњи извештај о раду друштва у 2020. години, усвојен на уживо одржаној Годишњој изборној скупштини СХД (не електронској), 16. јуна 2021. године. То што сматрамо да је извештај Друштва за сваку годину од велике је важности за рад како бисмо видели како нам је прошла још једна година професионалног живота и разлог је зашто је важно да извештај буде доступан сваком члану СХД. Зато Извештај дајемо у целости, а припремиле су га секретари СХД: проф. др Маја РАДЕТИЋ, и в. проф. др Јелена ТРИФКОВИЋ.

Ратко М. Јанков



## ЧЛАНЦИ



Драган М. ПОПОВИЋ,  
Виши научни сарадник, Центар за хемију, ИХТМ, Универзитет у Београду,  
(email: dpopovic@ihtn.bg.ac.rs)

### ФОТОЛИАЗА – МОЛЕКУЛСКИ МЕХАНИЗАМ ОПРАВКЕ UV-ИНДУКОВАНИХ ДНК ЛЕЗИЈА

#### КРАТАК ИЗВОД

Оштећења на ДНК структури, као што су одсецања и модификације азотних база или промене на шећерно-фосфатним групама, често су изазвана UV светлосћу, јонизационим зрачењем, токсичним и канцерогеним супстанцама, као и загађењима из животне средине. Да би се одржала генетичка стабилност ћелије, развили су се заштитни механизми који оправљају различите врсте оштећења. Многи ДНК репарациони процеси код прокариотских и еукариотских ћелија су веома слични. Фотолиаза отклања најчешће ДНК дефекте, настале UV (200-300 nm) зрачењем – циклобутан пиримидиске димере (CPD) и (6-4)-фотопродукте, тако што катализује цепање циклобутанског прстена CPD димера на пиримидинске мономере у ретро-Дилс-Алдреровој реакцији иницираној блиском UV или видљивом плавом светлосћу (UV/VIS, 300-500 nm). CPD оштећења ДНК која нису поправљена и отклоњена су високо цитотоксична, изазивајући мутагене и канцерогене промене у ћелији на нивоу ДНК и одговарајућих протеина. Механизам рада овог ензима је познат и у доброј мери експериментално истажен. Ипак, многи термодинамички и кинетички параметри могу бити одређени само путем теоријско-рачунарских студија на чије резултате ће овде такође бити бачен акценат. Поред тога, у овом тексту је понуђен одговор на неколико контраверзних детаља и питања, која су дуго времена била неразјашњена.

#### МЕХАНИЗМИ РЕПАРАЦИЈЕ ДНК КОД ЖИВИХ ОРГАНИЗАМА

Сваког дана наша ДНК се оштећује дејством UV радијације, слободним радикалима, токсичним и канцерогеним супстанцама. Међутим, и без тих негативних спољашњих утицаја, ДНК молекули *in vivo* су по својој природи нестабилни. Хиљаде спонтаних промена на ћелијском геному дешава се на дневној бази. Поред тога, дефекти се могу појавити и када се ДНК копира током ћелијске деобе, процесом који се сваког дана у људском телу дешава неколико милиона пута. Једини разлог што се наш генетски материјал не дезинтегрише у потпуни хемијски хаос је тај што су ћелије еволуцијом развиле више различитих молекулских система који непрекидно прате и врше оправке на ДНК молекулима.

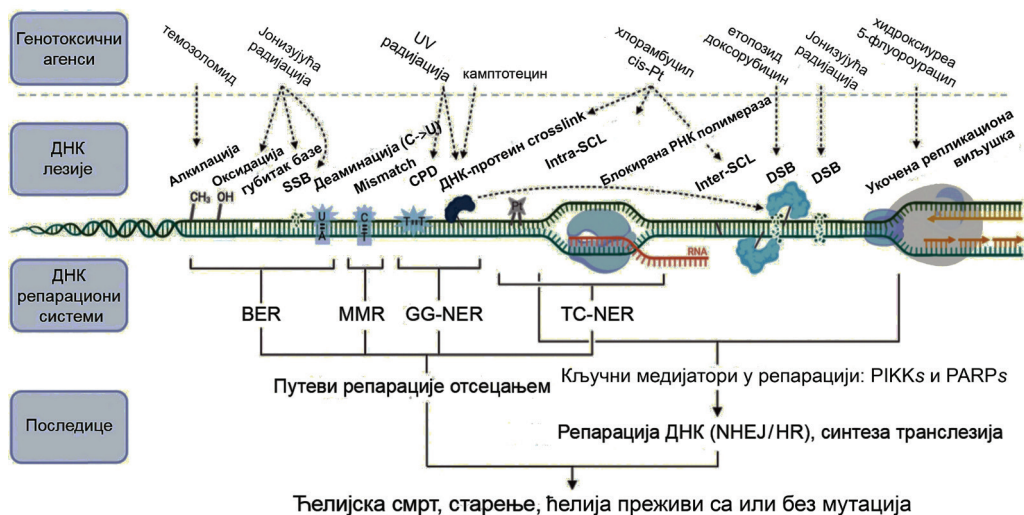
До раних седамдесетих годинама прошлога века, веровало се да су ДНК молекули изузетно стабилни.

Међутим, Томас Линдал (Tomas Lindahl) је већ 1974. год. демонстрирао да је брзина распада ДНК молекула у живим ћелијама (при физиолошким условима) таква да се са правом поставља питање, како је развој живота на Земљи уопште могућ [1]. Ово сазнање довело га је до закључка о постојању молекулске машинерије која врши оправке на оштећеним деловима ДНК, а затим и до открића механизма репарације одсецањем база (base excision repair, BER), који непрестано оправља колапсе на нашој ДНК [2]. Са друге стране, изолованани ДНК материјала се може неограничено дуго чувати на ниским температурама што се користити у савременој форензици или за доказивање родитељства. За разлику од њих, РНК молекули су јако нестабилни и брзо се распадају након изоловања.

Азиз Санкар (Aziz Sancar) је истраживао механизам репарације одсецањем нуклеотида (nucleotide excision repair, NER), који ћелије користе да оправа оштећења настала UV зрачењем на ДНК молекулима [3]. Људи рођени са дефектима у овом репарационом систему неминовно ће развити рак коже ако су изложени сунчевој светлости. Ћелије такође користе NER механизам, између осталог, да коригују дефекте проузроковане мутагеним супстанцама. Овај репарациони механизам је прилично универзалан и може да коригује и оправи више врста дефеката и лезија на ДНК молекулима, али га поседују само плацентни сисари.

Пол Модрич (Paul Modrich) је демонстрирао како наше ћелије коригују грешке које се јављају при ДНК репликацији за време ћелијске деобе. Он је открио и истражио механизам који отклања грешке услед погрешног спаривања нуклеотидних база (mismatch repair, MMR) [4]. Овај механизам редукује учестаност појаве грешака при ДНК репликацији за око хиљаду пута. Урођени дефекти у „mismatch“ репарацији су познати у биологији и узрок су наследној варијанти рака дебелог црева.

Током еволуције настало је више биолошких система и механизма који врше оправке или замене оштећених делова ДНК. Они представљају својеврсне „ћелијске алате“ за оправку оштећења на ДНК молекулима. Преглед тих система и механизма је приказан на слици 1. Дати су примери генотоксичних агенаса, који доводе до стварања различитих типова оштећења на ДНК молекулу, означени су ДНК репарациони механизми који их могу оправити и уклонити, као и последице које могу настати по ћелије организма уколико лезије не буду благовремено отклоњене (слика 1).



Слика 1. Илустровани су различити типови оштећења на ДНК молекулу, комплексност и међуповезаност репарационих система. Коришћене су следеће скраћенице: прекид једног ланца (single-strand break, SSB), прекид оба ланца (double strand break, DSB), интер-ланчани cross-link (Inter-SCL), интра-ланчани cross-link (Intra-SCL), репарација отсецањем база (base excision repair, BER), mismatch репарација (MMR), репарација отсецањем нуклеотида на глобалном геному (global genome nucleotide excision repair, GG-NER) и транскрипционо-спрегнути NER (TC-NER). Јонизујуће зрачење може да доведе до губитка пуринске базе (гуанина или аденина) из једног ланца ДНК; реакцијом депуринације, веза између базе и деоксирибозе се хидролитички цепа, при чему фосфодиестарски костур остаје непромењен. Кључни медијатори у репарацији критичних оштећења ДНК услед SSB, DSB и замрзнуте транскрипционе или репликационе виљушке су поли(АДП-рибозне) полимеразе (PARPs) и киназе повезане са фосфатидилинозитол 3-киназом (PIKKs). Систем користи два главна механизма да отклони прекид настао на оба ланца ДНК: путем спајања нехомологих крајева ДНК (non-homologous end joining pathway, NHEJ) без учешћа ДНК темплата и хомологом рекомбинацијом (HR) која користи сестрински хроматидин као темплат за репарацију оштећеног ланца. Адаптирано на основу референце [5].

ДНК је стално изложена штетним и деструктивним агенсима унутрашњег и спољашњег порекла, који сваког дана створе на десетине хиљада ДНК лезија на ћелијском геному [6]. Поред радијације и хемијских агенаса који доводе до cross-link промена, неки други типови лезија су такође откривени. Они укључују хемијске модификације (алкилацију, оксидацију, депуринацију и деаминацију), грешке при ДНК репликацији (mismatch у спаривању азотних база) и друге препреке у ДНК структури које могу да зауставе репликацију и транскрипцију (на пр., блокада РНК полимеразе, замрзнута репликациона виљушка, потешкоће при репликацији секвенце код свих типова ДНК (сем Б-типа) и сл.) [5].

Постојање вишеструких ДНК оштећења, различитог типа и порекла, објашњава зашто су ћелије еволуирале и створиле високо софистицирану и ефикасну мрежу за праћење, сигнализирање и репарацију, која се групно означава – „одговор на ДНК оштећења“ (DNA damage response, DDR) [6]. Тек је недавно почела да се разуме молекуларна комплексности DDR мреже, која укључује више репарационих система, као што су механизми одсецањем – BER, NER, MMR, рекомбинацијом – HR и NHEJ путеви, те њихова стална и сложена међукомуникација. Биолошка сврха DDR-а је контрола нестабилности генома у нормалним и здравим ћелијама. Са терапеутске тачке гледишта, DDR представља кључ стратегије за борбу против канцерогених ћелија. Сматра се да би циљање DDR система код ћелија рака могло да спречи неконтролисано пролиферацију канцера [7].

Важност овог поља истраживања је препозната и од Нобеловог комитета, који је награду за хемију 2015. год. доделио Томасу Линдалу, Азизу Санкару и Полу Модричу за пионирске радове у изучавању и мапирању механизма којима ћелије оправљају оштећену ДНК и тиме чувају генетске информације записане у свом коду. Њихов рад довео је до фундаменаталних знања како живе ћелије функционишу на молекулском нивоу и то знање може се користити за развој нових анти-канцер третмана и лекова.

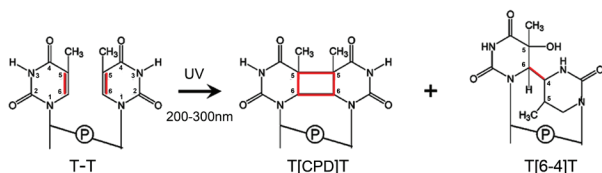
Два најзначајнија механизма за оправку UV-лезија су NER (код плацентних сисара) [3] и фотолиазом-индукована фотореактивација (у већини других живих организама) [8]. У даљем делу овог текста биће пре свега речи о ДНК фотолиазама, њиховој структури, специфичностима и реакционом механизму репарације ДНК молекула.

## UV ОШТЕЋЕЊА НА ДНК МОЛЕКУЛИМА

Сунчева светлост садржи три типа ултраљубичастог (UV) зрачења: UV-A (315–400 nm), UV-B (280–315 nm) and UV-C (100–280 nm). Озонски омотач земље апсорбује сво UV-C и око 90% UV-B зрачења. Стога, UV зрачење које дође до површине земље састоји се углавном од UV-A и малим делом од UV-B фотона. Већина мутагених и канцерогених својстава сунчеве светлости преписује се UV-B зрачењу [9]. Оштећења атмосферског озонског омотача појачавају UV-B радијацију на земљи-

ној површини, што резултује у повећању озбиљних оштећења у биосфери [10].

Изолагање UV зрачењу може довести до стварања ДНК фотопродуката између суседних пиримидинских база на истом ДНК ланцу тј. до формирања *cis,sin*-циклобутан пиримидинских димера (CPD) и пиримидин-пиримидон-(6-4)-фотопродуката ((6-4)ФП) [8, 9]. CPD дефекти настају [2л + 2л] циклоадицијом између C<sub>5</sub>=C<sub>6</sub> веза суседних пиримидинских база (тимин и цитозин). Реч је о специјалном случају Дилс-Алдерове (Diels-Alder) реакције инициране UV-фотонима, коју дефинишу Вудвард-Хофманова (Woodward-Hoffmann) правила. (6-4) дефекти настају Патерно-Бучијевом (Paterno-Büchi) реакцијом [2л + 2л] циклоадиције између C<sub>5</sub>=C<sub>6</sub> везе са 5' нуклеозида и C<sub>4</sub>=O карбонилне групе са 3' нуклеозида, која иде преко оксетанског интермедијера, нестабиланог на ниским температурама, услед чега се прстен брзо и лако отвара стварајући (6-4) ФП [11], види слику 2.



Слика 2. Приказ UV-индукованих пиримидин – пиримидин дефеката: циклобутан пиримидин димер (CPD) и (6-4)-фотопродукт (T[6-4]T). Фотопродукти се формирају између суседних пиримидинских база (приказан је пар тимина) које припадају истом ДНК ланцу.

CPD димери са ~80% од укупно награђених фотопродуката чине најчешћа оштећена на ДНК генетском материјалу, а могу се *in vivo* створити између свих пиримидинских парова али са неједнаком заступљеношћу. Тренд формирања је следећи: 5'-T[CPD]T-3' > 5'-T[CPD]C-3' > 5'-C[CPD]T-3' > 5'-C[CPD]C-3', при чему је удео T[CPD]T око три пута већи него T[CPD]C дефеката. Код (6-4)ФП ситуација је специфична, па је формирање T[6-4]C лезија чешће него код T[6-4]T парова, док се дефекти на C-T местима уопште не формирају [11].

UV-индуковане ДНК лезије су одговорне за многе деструктивне ефекте, пошто оне могу да делују као физичка блокада за репликацију и транскрипцију. Овим се драстично успоравају или онемогућавају метаболички процеси на ДНК молекулима, што може даље довести до мутација генетског материјала и ћелијске смрти. Најчешће мутације на ДНК молекулима изазване фотопродуктима су прелазак C у T или CC у TT. Ако ове промене у генетском материјалу доведу до мутација на протеинима укљученим у контроли ћелијског циклуса, апоптози (облик програмиране ћелијске смрти) или ДНК репарацији, то би могло резултовати у појави карцинома. Познат је пример p53 мутације која проузрокује рак коже као последицу излагања UV радијацији [9, 12].

## ФУНКЦИОНАЛНА И ФИЛОГЕНЕТСКА КЛАСИФИКАЦИЈА

UV зрачење оштећује ДНК стварањем циклобутан пиримидинских димера (CPD) и (6-4)-фотопродуката, што може даље довести до мутација генетског материјала, канцера и ћелијске смрти. Да би се одржао генетски интегритет ћелија, фотолиазе су се развиле и еволуирале у ензиме који оправљају оштећења на ДНК молекулима која су настала под утицајем UV зрачења. На основу специфичности према супстрату могу се разликовати CPD фотолиазе и (6-4) фотолиазе. CPD фотолиазе су пронађене у сва три биолошка домена (домен археја, домен бактерија и домен еукариота), док су (6-4) фотолиазе идентификоване само код еукариотских организама и претпоставља се да су настале касније током еволуције [13]. На основу тога што су нађене код великог броја археја, сматра се да су CPD фотолиазе древни ДНК репарациони ензими. Они су били есенцијални за преживљавање организама за време раних стадијума у еволуцији, услед интензивне UV радијације која је пролазила кроз тадашњу атмосферу веома сиромашну кисеоником [14, 15].

Током еволуције фотолиазе су исчезле код плацентних сисара укључујући и људе, а замењене су напреднијим репарационим NER системом. Велики број фотолиазама-сличних гена је идентификован код свих живих организама, и они кодирају протеине који деле високу структурну сличност, имају очувани централни домен и FAD као каталитички кофактор. Ови протеини заједно формирају бројну фамилију флавопротеина, која је означена као криптохром/фотолиаза фамилија (CPF) [16]. Постоје међу њима и одређени чланови CPF протеина, који немају способност да оправљају UV-индукована оштећења на ДНК. Реч је о криптохромима, који регулишу одговор на плаву светлост код биљака, усклађују циркадијални ритам (дневно/ноћне и бројне друге функције свих најважнијих органа у организму) код животиња, као и функцију магнеторецептора код птица и инсеката. Први криптохром нађен је код мале цветне биљке *Arabidopsis thaliana*, урочњак или скупљен из породице крсташица [17], а пар година касније су криптохроми откривени и код људи [18]. Дакле функционално, ензими CPF фамилије деле се у три главне класе: CPD фотолиазе, (6-4) фотолиазе и криптохроме (Cry).

На основу филогенетских студија, CPF ензими припадају једној од седам класа: класа I, II или III CPD фотолиаза, биљни криптохроми, DASH-криптохроми, (6-4) фотолиазе и животињски криптохроми [15, 19]. Недавно је откривена још једна еволуционо стара и потпуно неспецифична класа Fe-S бактеријских криптохрома и фотолиаза (FeS-BCP). Поред FAD каталитичког кофактора и 6,7-диметил-8-рибитил-лумазин антена молекула нађеног само у овој класи, идентификован је и Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> кластер који игра улогу у стабилизацији структуре ензима [20].

Класе I и III CPD фотолиаза нађене су у микробним организмима, док је класа II CPD фотолиаза најчешће идентификована код виших организама, укључујући животиње и биљке, али такође и код археобактерија, еубактерија, и једноћелијских алги [21]. Упркос истом

супстрату, класе I и III CPD фотолиаза показују мању сличност са класом II CPD фотолиаза него са (6-4) фотолиазама [21, 22]. (6-4) фотолиаза уочене су само код еукариота. Биљни Cгу формирају специфично блиску групу са класом III CPD фотолиаза, док животињски Cгу су блиско повезани са (6-4) фотолиазама [20, 23].

Посебно разнолика и необичних својстава је DASH-Cгу класа. DASH (*Drosophila*, *Arabidopsis*, *Synechocystis*, *Human*)-тип криптохрома је присутан у неким бактеријама и биљкама, код различитих врста кичмењака (*vertebrata*), као и гљивама (*fungi*), а првобитно је био сматран само сензорским фоторецептором, због његове немогућности да оправља CPD оштећења у дволанчаном ДНК хеликсу. Међутим, DASH-Cгу ипак може да оправља CPD дефекте на једном ланцу ДНК *in vitro*, док његова улога у ДНК репарацији *in vivo* још увек остаје да се разјасни [19].

Данас је широко прихваћено становиште да је заједнички предак свих CPF ензима највероватније била CPD фотолиаза [14] и да су биљни криптохроми еволуирали из класе III CPD фотолиаза, док су животињски криптохроми изведени из (6-4) фотолиаза [13].

## ОТКРИЋЕ ФОТОЛИАЗЕ И ФОТОРЕАКТИВАЦИЈА

Да би се заштитиле од деструктивних ефеката UV-индукованих мутагених лезија, ћелије организама су еволуцијом развиле фотореактивацију, као високо специфичну и ефективну репарациону методу. Верује се да је то један од најстаријих и најпростијих ДНК репарационих система у природи. Још 1949. год., Келнер (Albert Kelner) је известио да ћелије *Streptomyces griseus*, *Escherichia coli*, *Penicillium notatum* и *Saccharomyces cerevisiae*, озрачене UV зрачењем, показују пораст у преживљавању од 100–400.000-пута ако се након тога изложе видљивој светлости. Овај феномен је назван фотореактивацијом [24], а слични резултати су добивени и са бактериофагама изложеним UV радијацији, а затим инкубираним са сензитивним бактеријама при видљивој светлости [25]. Како фаге убацују свој ДНК материјал у бактеријске ћелије, Дулбеко (Dulbecco) је исправно претпоставио да фотореактивација потиче од реверзибилне оправке UV-индукованих ДНК лезија посредством „ћелијских фактора“ током инкубације у присуству видљиве светлости, а много година касније Санкар је то детаљно истражио и потврдио [26]. Руперт је сматрао да је фотореактивација ензимски процес вођен фотореактивирајућим ензимом, који је касније назван фотолиаза. Поред тога, Руперт је демонстрирао да фотореактивација следи Михаелис–Ментенову реакциону кинетику с тим да је та катализа апсолутно зависна од светлости. Фотолиаза се везује за UV оштећену ДНК у мраку, а ослобађа се од оправљене ДНК након илуминације са видљивом светлошћу [26, 27].

Фотолиаза из *E. coli* и квасца које су прве биле студиране од стране Руперта, Дулбека и других могу да оправљају само CPD дефекте [25-27]. Четрдесет година након открића CPD фотолиазе, изолована је фотолиаза из *Drosophila melanogaster* (винске мушице) [28] која оправља (6-4) фотопродукате.

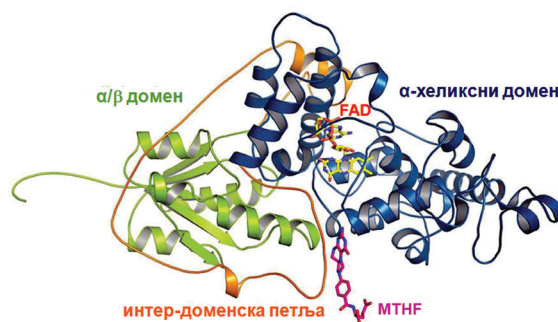
## ДНК ФОТОЛИАЗЕ

ДНК фотолиаза оправљају UV-индуковане ДНК лезије присутне на једном или оба ланца ДНК хеликса путем фотореактивације. На основу специфичности према супстрату разликују се два типа – CPD фотолиаза које оправљају CPD и (6-4) фотолиаза које оправљају (6-4)-фотопродукте. Мада функционо различити, оба типа су еволуционо и структурно блиско повезани [8].

ДНК фотолиаза су мономерни ензими дужине 454 до 614 аминокиселина са молекулском тежином од 50 до 65 kD [23]. Генерално, они садрже два нековалентно везана кофактора (хромофоре). Први кофактор је флавин аденин динуклеотид (FAD), чији је потпуно редуковани облик (FADH<sup>-</sup>) ензимски активан. FADH<sup>-</sup> функционише као каталитички кофактор и електрон донор. Други кофактор је хромофора која сакупља светлост тј. антена молекул који апсорбује UV/VIS фотоне из опсега 300–500 nm, и која варира зависно од протеина. Присуство антена хромофоре није апсолутни услов за активност фотолиазе, пошто фотолиаза којима недостаје ова хромофора су и поред тога биолошки активне. Међутим, антена хромофора након апсорпције блиске UV или плаве светлости, преноси ексцитациону енергију до каталитичког кофактора, што као резултат даје побољшану ефикасности ДНК репарације [8, 29].

### Кристална структура фотолиазе

Park et al. су 1995. год. публиковали прву кристалну структуру једног CPF ензима из класе I фотолиаза изоловану из *E. coli* (слика 3). Њена глобуларна структура је неуобичајена за већину ДНК везивних протеина [30]. Архитектуру фотолиазе карактерише  $\alpha/\beta$  домен на N-терминалу и  $\alpha$ -хеликсни домен на C-терминалу. Два домена су повезана преко дуге интер-домenske петље, која је обмотана око  $\alpha/\beta$ -домена. У  $\alpha$ -хеликсном домену налази се везивни џеп у коме је каталитички кофактор FAD докован за протеински матрикс.



Слика 3. Структура фотолиазе из *E. coli* (PDB код: 1DNP) [30]. Шематски приказ показује  $\alpha/\beta$  домен (зелено) и  $\alpha$ -хеликсни домен (плаво), повезане дугим интер-доменским линкером (наранџасто). Кофактори MTHF и FAD су дати у љубичастој и црвеној боји.

$\alpha/\beta$  домен показује типичну Росманову терцијалну структуру, која може да везује нуклеотиде [31], са пет издужених паралелних  $\beta$ -набраних плочица које су са обе стране покривене  $\alpha$ -хеликсима. Овај домен обезбеђује везивно место за хромофору која сакупља светлост тј. антена молекул који апсорбује UV/VIS фотоне из опсега 300-500 nm.

Кристална структура комплекса CPD фотолиазе из *Anacystis nidulans* са ДНК-дуплексом који садржи аналог CPD лезије публикована је 2004. год. [32]. Структура је потврдила да CPD фотолиаза локално отвара дволанчани ДНК хеликс на оштећеном месту, омогућавајући CPD дефекту да се несметано убаци у каталитичку шупљину. С друге стране, структурне промене на самом ензиму при везивању ДНК остају само маргиналне.

Кристална структура (6-4) фотолиазе из *Drosophila melanogaster* (винска мушица), везана са дволанчаном ДНК која садржи синтетичку (6-4) лезију објављена је 2008. год. [33]. Нађено је да је основна протеинска архитектура иста као и код CPD фотолиаза, баш као и начин везивања ДНК лезије тј. (6-4) супстрата за активно место ензима. Кристалне структуре криптохрома откриле су хомологију целокупне 3Д-топологије са фотолиазама. Поред тога, криптохроми имају С-терминалну екстензију важну при преносу сигнала, која међутим није присутна у структурним моделима из протеинске базе података (PDB) [13].

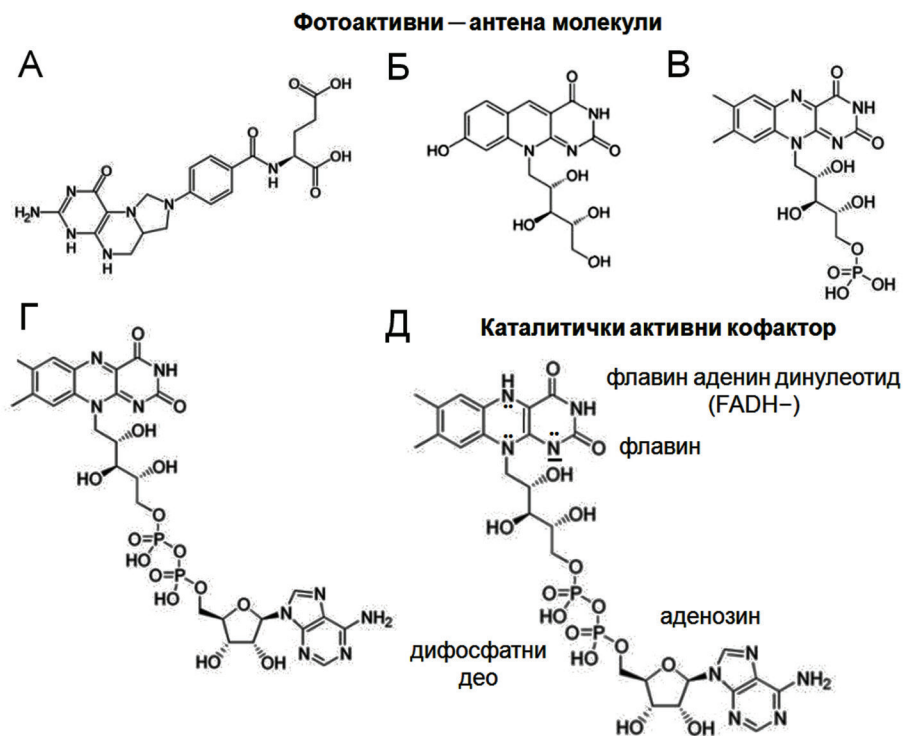
Данас је око петнаестак кристалних структура различитих CPF ензима доступно у PDB бази. Структура пептидног низа фотолиазе из *E. coli* [30] је очувана не само у класи I фотолиаза [32], него и код многих других

протеина из CPF фамилије, као што је класа (6-4) фотолиаза [33], биљни криптохроми, DASH криптохроми, као и у класи II фотолиаза [34]. Укупна RMS девијација (root mean square deviation) за тринаест CPF структура са различитим секвенцама је 2.36 Å.

Изгледа да сви изучени CPF протеини користе исти тип екситационе енергије и исти механизам електрон трансфера (ЕТ) који, захваљујући осетљивости на растојање и оријентацију, присиљава протеине да се увијају тако да чувају специфичну терцијалну структуру, како би осигурали оптималан распоред и позицију есенцијалних кофактора и кључних аминокиселинских остатака [13, 35]. Међутим, и поред тога одређене структурне специфичности су нађене како код представника различитих класа, тако и у оквиру исте класе.

#### Антиена хромофоре

Друга хромофора код фотолиазе служи као фото-антиена која апсорбује квант-светлости и преноси екситациону енергију до каталитичког кофактора. Антиена хромофоре нису есенцијалне за функцију ензима тј. ензим може обављати биолошку функцију и без њих, као на пример, директном апсорпцијом и екситацијом каталитички активне хромофоре  $FADH \rightarrow FADH^*$  фотоном блиске UV-светлости ( $\lambda \approx 360$  nm). Међутим, антиена молекули су свакако значајни, јер повећавају ефикасност апсорпције фотона и проширавају опсег спектра светлости у коме је ензим активан. Много већа ефикасност апсорпције фотона светлости код антиена хромофоре у односу на FAD последица је директне изложености дела антиена молекула спољашњој средини. Насупрот томе FAD је позициониран на дну каталитичке шупљине.



Слика 4. Кофактори у ДНК фотолиазама и криптохромима. Антиена хромофоре: А) 10-метилтетрахидрофолат (MTHF) у фотолиази из *E. coli* (PDB: 1DNP) [30]. Б) 8-хидрокси-5-дезафлавин (8-HDF, Fo) у фотолиази из *A. nidulans* (PDB: 1QNF). В) флавин мононуклеотид (FMN) у фотолиази из *T. thermophilus* (PDB: 2J09). Г) FAD као антиена хромофора у фотолиази из *S. tokodaii* (PDB: 2E01). Д) Каталитички активни кофактор код свих ензима из CPF фамилије је флавин аденин динулеотид (FADH<sup>-</sup>) [29].



До пре петнаест година, на основу антена молекула разликовали смо CPD фотолиазе фолатног (*E. Coli*) и деазафлавиноског (*A. nidulans*) типа. Данас знамо да CPD фотолиазе могу поседовати као антена хромофору: 10-метенил-тетрахидрофолат (МТНФ,  $\lambda_{\text{max}} \approx 380 \text{ nm}$ ) и неколико нуклеотиду сличних молекула као што су 8-хидрокси-5-деазарибофлавин (8-HDF, Fo,  $\lambda_{\text{max}} \approx 445 \text{ nm}$ ), флавин мононуклеотид (FMN,  $\lambda_{\text{max}} \approx 446 \text{ nm}$ ) и флавин аденин динуклеотид (FAD,  $\lambda_{\text{max}} \approx 450 \text{ nm}$ ) (слика 4), док (6-4) фотолиазе садрже само Fo хромофору [29]. До сада истражени криптохроми садрже МТНФ антена молекула као хромофору, али листа вероватно није коначна.

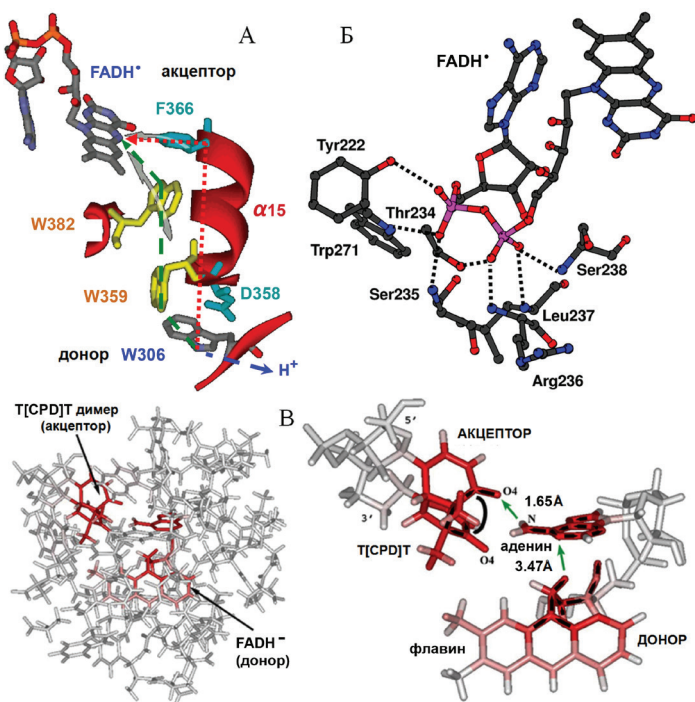
Трансфер ексцитационе енергије са антена хромофоре до FAD дешава се путем Форстеровог (Förster) резонантног трансфера енергије. Ефикасност и кинетика брзине трансфера енергије зависе од спектралних особина, оријентације обе хромофоре и растојања између њих [8]. Свакако да краћа растојања и мањи углови између транзиционих диполних момената два кофактора фаворизују ефикаснији трансфер енергије. Ефикасност трансфера ексцитационе енергије је око 60-70% у фотолиази из *E. coli* [36], 100% у *A. nidulans* фотолиази [37], и 78% у мраку односно 87% на светлости-адаптираном криптохрому Сгуз из *A. thaliana* [16]. Студије кристалних структура фотолиаза омогућавају откривање детаља механизма трансфера енергије између антена хромофоре и FAD.

Све хромофоре нуклеотидног типа су позициониране у сличним џеповима дубоко у унутрашњости N-терминалног субдомена и све су приближно 17–18 Å удаљене од FAD кофактора. Супротно од њих, МТНФ заузима положај унутар плитке шупљине између N- и C-терминалних субдомена и делимично се протеже изван површине ензима. Растојање између МТНФ и FAD од 15–17 Å је само нешто краће у односу на друге антена молекуле [35]. Већина аминокиселинских остатака који интерагују са антена молекулама нуклеотидног типа су идентични или конзервативни. Насупрот томе, везивна места за

МТНФ су мање очувана тј. много мање конзервативна. Тако да је само један од дванаест везивних аминокиселинских остатака конзервативан када се упореде фотолиаза из *E. coli* и DASH-криптохром из *A. thaliana* [8, 16].

### Необичан облик FAD кофактора

Каталитички FAD кофактор је докован за протеински матрикс у активном месту ензима. FAD интерагује са протеинским окружењем, претежно јаким водоничним везама (слика 5B), али и другим невезивним интеракцијама – стерног, електростатичког и ван дер Валсовог типа, услед чега заузима веома необичну конформацију у облику слова U. Ова конформација хромофоре је енергетски нестабилна у односу на опружену/релаксирану FAD конформацију у воденом раствору (или вакууму), али је у фотолиази стабилизована бројним интеракцијама у везивном месту. FAD у U-конформацији доводи прстен аденина тачно изнад флавина тј. трицикличног (хетеронуклеарног) прстена изоалоксазина. Равни два прстена су скоро међусобно нормалне са најкраћим растојањем између њих од 3.47 Å (слика 5B). Физиолошки значај U-конформације је да обезбеди најкраћи пут за трансфер електрона између донора (флавина) и акцептора (CPD), и тиме омогући брз ЕТ са високим степеном ефикасности. Методом „electronic tunneling currents“ [38, 39] која је развијена у групи проф. Стучебрукова, шефа групе у којој је аутор текста предходно радио, могуће је испитивати проток електрона кроз атоме и хемијске везе, као и правац и интензитет тунеловања електрона (electron tunneling) кроз протеински матрикс. Метода комбинује квантно-механичке прорачуне са Маркусовом теоријом електрон трансфера и идеалан је алат за симулације трансфера електрон на даљину у протеинима (long-range ET). Слика 5B графички приказује струјање електрона при трансферу електрона са флавина, преко аденина на CPD димер и илуструје важност необичне U-конформације FAD кофактора.



Слика 5. Графички приказ контраверзних детаља и питања. А) Који механизам трансфера електрона користи фотолиаза током процеса фотоактивације? Поређење hopping (зелена линија) и super-exchange (црвена линија) механизма. Плава линија означава депротонацију  $W306H^+$  до  $W306^+$ . Б) Неубичајена U-конформација FAD кофактора. FADH<sup>+</sup> је усидрен за активно место ензима бројним водоничним везама преко дифосфатне групе. В) Међусобни положај и оријентација донора (FADH<sup>-</sup>) и акцептора електрона (T[CPD]T) у ензиму. Директним трансфером електрона са редукованог фламина, преко аденина до CPD димера иницира се фоторепарациони процес на ДНК молекулу. Систем је студирао методом atomic tunneling currents [39], при чему атоми са већим протоком електрона су приказани интензивнијом црвеном бојом. Изузетно кратка растојања између молекулских група обезбеђују веома брз ЕТ (око 0.2 ns) [40].

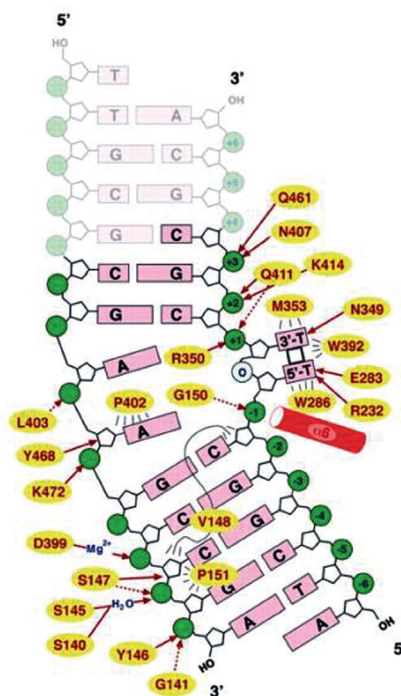
Вредно је поменути да модел структура комплекса CPD димера и фотолиазе, генерисана и оптимизирана у нашој групи (слика 5B), се готово идеално поклапа са кристалном структуром из PDB базе – 1TEZ [32] објављеном пар година касније (види текст доле).

### ДНК везивање

Претпоставља се да 10-20 молекула фотолиазе у свакој хелији скенирају геном тражећи UV-лезије. Ово су структурно-специфични ензими који препознају и везују UV-лезије са изузетно високом ефикасношћу.

Прва решена кристална структура фотолиазе из *E. coli* [30] није довољно разјаснила енигму механизма фотолиаза–ДНК везивања. Откривена је релативно мала и дубока каталитичка шупљина, што је одмах довело до питања како и колико ДНК хеликс може да приђе до ензима, те колико је CPD димер удаљен од FADH<sup>-</sup> кофактора у комплексу ДНК–фотолиазе. Да ли треба очекивати веће конформационе промене на површини ензима и отварање активног места код фотолиазе и/или настају значајне структурне промене у делу ДНК молекула који садржи UV-лезију. Растојање и оријентација између интерагујућих молекула (CPD и FADH<sup>-</sup>) дефинишу енергетику и кинетику процеса репарације, што је такође остало још једно отворено питање. Прорачуни су показали да дволанчани ДНК молекула са CPD дефектом не може да приђе на растојање краће од 4.3 Å, ако нема отварања активног места ензима и већих конформационих промена. То је довело до више различитих хипотеза, међу којима је била и претпоставка по којој пиримидински димер искочи из дволанчаног ДНК хеликса („flipping-out модел“), који се локално расплете око самог места лезије, тако да CPD димер сада може дубље да се увуче у каталитички везивни џеп и оствари блиски контакт са каталитичким кофактором. При томе, сада могу да се награде водоничне веза између карбонилних кисеоника пиримидинског димера и –NH<sub>2</sub> групе аденинског дела FAD молекула (слика 5B). Реч је о веома јакој водоничној вези C=O...H–N дужине 1.65 Å [39]. Блиски контакт CPD димера са каталитичким кофактором омогућава бржи пренос електрона на димер и побољшава ефикасност ензимске катализе.

„Flipping-out хипотеза“ је подржана и побољшана биохемијским студијама [41, 42], компјутерским моделовањем и симулацијама [39, 40, 43], као и NMR спектроскопским подацима [44]. Када је 2004. год. објављена кристална структура фотолиаза–ДНК комплекса (класа I фотолиазе из *A. nidulans*) [32], flipping-out модел је потврђен са много више детаља. Демонстрирано је да препознавање UV-лезије независно од ДНК секвенце се заснива на јонским мостовима и водоничним везама углавном награђеним између ензима и фосфатних група на ДНК ланцу који садржи CPD дефект (слика 6) [32]. Како је ланац која носи CPD димер деформисан и делимично локално расплетен, специфичне интеракције тог дела ДНК и ензима су кључне за препознавање UV-лезије. Дакле, реч о препознавању комплементарности површина и електростатичких интеракција.



Слика 6. Везивање ДНК супстрата за фотолиазу и „flipping-out модел“. Дијаграм је добијен апстраховањем података из кристалне структуре ДНК–фотолиаза комплекса (PDB код: 1TEZ) [32]. Дијаграм приказује интеракције између дволанчаног ДНК хеликса и класе I фотолиазе из *A. nidulans*. Нуклеотиди којима није јасно дефинисана електронска густина су приказани бледом бојом. Зеленим кружићима обележене су фосфатне групе на ДНК молекулу. Стрелице са пуном линијом означавају привлачне интеракције са аминокиселинским бочним остацима, док испрекидане линије одговарају стабилизујућим интеракцијама са атомима пептидних веза.

Структура комплекса (6-4) фотолиазе из *D. melanogaster* и дволанчаног ДНК хеликса са (6-4)-лезијом потврдила је очување истог ДНК везивног механизма код CPD фотолиаза и (6-4) фотолиаза [33]. Један прилично сличан, мада не и потпуно идентичан начин везивања је такође откривен на основу кристалне структуре комплекса ензим–ДНК супстрат код CPD II фотолиазе из *Methanosarcina mazei* [34].

3Д-модел дволанчаног ДНК хеликса са контактним местима која интерагују са фотолиазом дат је на слици 7А, док је електростатички потенцијал на површини фотолиазе *E. coli* [30, 40] приказан на слици 7Б (види објашњење уз слику). Овај модел је потврдио да је препознавање CPD дефекта у исто време и препознавање комплементарних површина ДНК и фотолиазе уз структурно-специфично везивање CPD димера за активно место ензима. Упоређивањем различитих структура фотолиаза из PDB базе, постало је јасно да све фотолиазе поседују позитивно наелектрисану ДНК везивну површину на ензиму у близини каталитичког активног места у коме је смештен FAD кофактор. Тиме су подржане интеракције са фосфатним групама из ДНК (слика 7Б), мада сама наелектрисања на површини нису довољна за везивање ДНК за ензим [40]. Унутрашњост каталитичког џепа показује негативан потенцијал који привлачи

и интерагује са пиримидинским базама из CPD димера, што води до даље стабилизације комплекса у активном месту (слика 7Б).

## ФОТОАКТИВАЦИЈА FAD-A

Флавини везани за протеине могу бити у неком од три редокс стања у пет различитих облика: оксидован облик (FAD), полуређуковани семихинони (неутрални радикал FADH<sup>•</sup>; анјонски радикал FAD<sup>•-</sup>) или потпуно ређуковани хидрохинони (FADH<sup>-</sup> и FADH<sub>2</sub>). Због различитих спектралних особина [45], редокс стања флавина у флавопротеинима могу се *in vitro* анализирати праћењем апсорпционих спектра протеина [46].

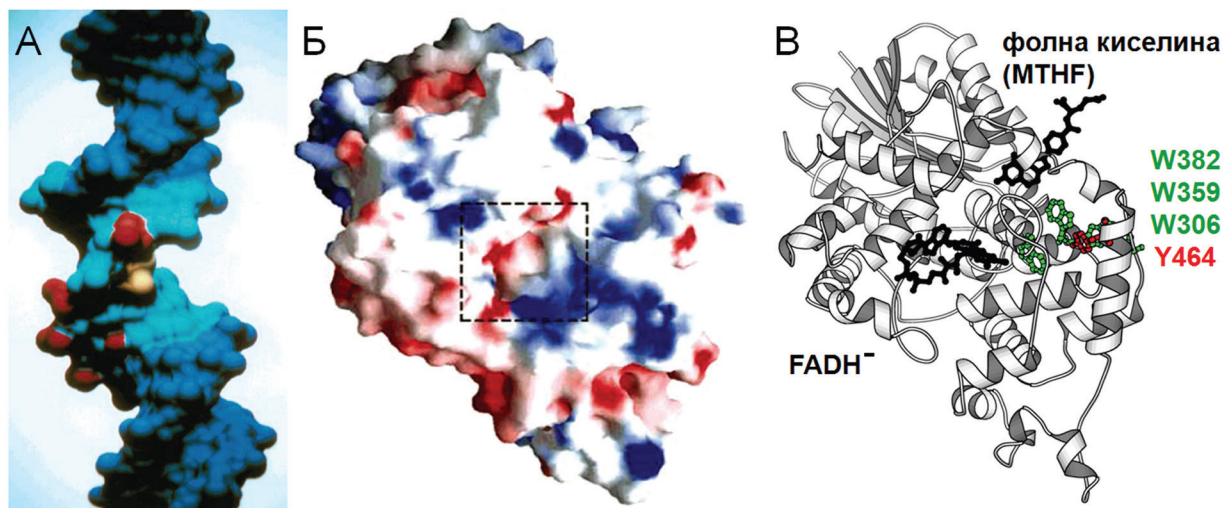
У фотолиазама, каталитички активан облик флавина је FADH<sup>-</sup>, који је *in vivo* доминантан облик. Током пречишћавања фотолиазе под аеробним условима, флавински кофактор се обично оксидује до полуређукованог или чак до потпуно оксидованог облика у одређеним случајевима. Излагање таквих неактивних фотолиаза светлости у присуству ређукујућих агенаса, као што су дитиотреитол, ЕДТА или β-меркаптоетанол, може довести до конвертовања фотоекситованог флавина (FADH<sup>•</sup>) у активни FADH<sup>-</sup> облик [47]. Овај функционално есенцијалан фотоређуковани процес назван је фотоактивација [8].

Фотоактивација *in vitro* захтева фотоексцитацију флавина и електрон трансферни низ (пут) до флавина, који ће да обезбеди електрон за његову ређуковацију. Фотоексцитациона енергија за фламин се обезбеђује или путем директне апсорпције фотона плаве светлости (630 nm) од стране самог FADH<sup>•</sup> кофактора или MTHF антена хромофора прво апсорбије фотон плаве светлости (≈510 nm), а затим унутар 200 ps путем трансфера енергије

са 60% ефикасности екситује фламин [48]. Типично, пут трансфера електрона састоји се од три триптофана (Trp-тријада), који су лоцирани унутар C-терминалног α-хеликсног домена фотолиазе (слика 7В). Trp-тријада је конзервативна у већини ДНК фотолиаза [30, 33] сем у класи II фотолиаза, код које је једна алтернативна Trp-тријада идентификована на различитој позицији [34], као и код FeS-BCP класе. Електрон трансферни низ који ређукује фотоекситовани FADH<sup>•</sup> посредством конзервативне Trp-триаде, недавно је упоређен код различитих класа CPF ензима, показујући изненађујуће структурно преклапање свих кључних актера електрон трансферног низа.

*In vitro*, фотоекситовани FADH<sup>•</sup> екстрахује један електрон са проксималног Trp382 (*E. coli*) у активном месту ензима и иницијално награди charge-separated (FADH<sup>-</sup> Trp382H<sup>•+</sup>) стање у току 40 ps. Дакле, Trp382 је примарни електрон донор при процесу фотоексцитације. Настали Trp382H<sup>•+</sup> катјон радикал, одмах апстрахује електрон са средњег Trp359, а овај затим узима електрон са дисталног Trp306 који је делимично у контакту са спољашњом воденом средином [48]. Настали Trp306H<sup>•+</sup> катјон радикал може да се детектује за <10 ns, који затим депротонује до неутралног радикалског Trp306<sup>•</sup> облика у току 300 ns. Коначно, Trp306<sup>•</sup> радикал се у одсуству спољашњег електрон донора (ређукујућег средства) експоненцијално релаксира са временском константом од 17 ms услед рекомбинационог процеса. Рекомбинациона кинетика је јако убрзана на нижим pH вредностима, јер Trp306<sup>•</sup> треба протонovati пре рекомбинације наелектрисања [36].

Фотоређуковација фламинског кофактора била је интензивно студирана *in vitro* код класе I фотолиазе из *E. coli* и *A. nidulans*, као и код Cpu1 из *A. thaliana* [36, 49].

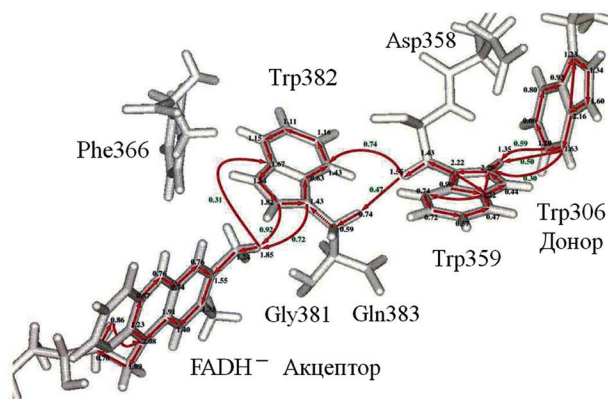


Слика 7. Структуре дволанчане ДНК са CPD дефектом и репарационог ензима фотолиазе. А) Space-filling приказ молекулске површине ДНК. Контактна места која интерагују са фотолиазом су означена бојом: цијан – делови који интерагују на површини фотолиазе, црвена – фосфатне групе и N7 атом гуанина директно укључени при везивању, жута – циклобутански прстен. У овом моделу, ДНК је увијена за 27° унутар главне бразде (major groove) код CPD места. Б) Електростатички потенцијал приказан на површини ензима израчунат је коришћењем линеарне Поасон-Болтцманове једначине и програма MEAD [40]. Позитиван потенцијал је означен плавом, а негативан црвеном бојом. Активно место (означено квадратом) са FADH<sup>-</sup> докованим у унутрашњости је везивно место за CPD димер. В) Ribbon приказ кристалне структуре фотолиазе из *E. coli* са положајем фолне киселине као антена молекула, FADH<sup>-</sup> каталитичког кофактора, триптофанске триаде и Trp464 [30].

Транзиционом апсорпционом спектроскопијом [50], поред триптофана, уочена је и есенцијална улога једног тирозина као унутрашњег-терминалног електрон донора, мада до сада није експериментално идентификовано о коме Туг остатку је реч код фотолиазе из *A. nidulans* и Сгу1 из *A. thaliana*. На основу теоријско-рачунарске студије код *E. coli*, Туг464 је идентификован као потенцијални електрон дозор [40], што би по аналогији имплицирало да се код фотолиазе из *A. nidulans* радикалско интермедијерно стање преноси са дисталног Тгр314 на Туг468.

### Horping или super-exchange механизам

Да ли фотолиаза користи исти механизам да фоторедукује FAD *in vivo*, још увек није у потпуности разјашњено [51]. Међутим, мутације аминокиселинских остатака триптофанске-тријаде (Тгр382Phe, Тгр359Phe, Тгр306Phe) које блокирају фотоиндуковани ЕТ *in vitro* [52], не ремете ензимску активност фотолиазе *in vivo*, што подржава становиште да је фотоактивација од малог физиолошког значаја *in vivo* [48]. Међутим, ситуација није тривијална, нити потпуно разјашњена. Фотоиндуковани трансфер електрона од Тгр306 до флавина може тећи алтернативним путевима, на пример, horping механизмом (*in vitro*) [36] и super-exchange механизмом (*in vivo*) [8] (слика 5А). Horping механизам подразумева пренос електрона кроз простор са једне на другу просторно блиску молекулску групу. Овде су укључени флавин и Тгр-триада, при чему је акцептор FADH<sup>-</sup>, а крајњи електрон дозор Тгр306. Скоковит трансфер електрона и померање катјон радикала дуж Тгр-триаде одвијају се у супротним правцима. Методом „atomic tunneling currents“ додатно је подржана директна улога Тгр-триаде у фотоактивационом процесу и показано је да се овај процес може објаснити тунеловањем електрона кроз хемијске везе уз скоковит пренос кроз простор између раздвојених молекулских група [38, 39] (слика 8). Директан трансфер електрона са Тгр306 на FADH<sup>-</sup> (*in vitro*) није остварљив због растојања од око 15 Å, а рачунски је утврђено да би такав ЕТ био превише спор – (пар  $\mu$ s) у поређењу са израчунатом [40] и експериментално измереном брзином [36] horping трансфера (пар ns). Super-exchange механизам *in vitro* такође никад није експериментално потврђен.



Слика 8. Струје тунеловања у фотолиазе из *E. coli*. Анализа резултата „atomic tunneling currents“ методе [38] даје величину и смер тунелованог протока електрона

кроз хемијске везе, али и при скоковитом преносу кроз простор. Циркуларне струје су опажене код ароматичних аминокиселина Тгр359 и Тгр382, као и код дозора и акцептора.

Код *super-exchange* механизма, дозор (Тгр306) и акцептор (FADH<sup>-</sup>) електрона остају исти, али електрон путује кроз пептидне везе  $\alpha$ 15 хеликса као кроз жицу, тј. реч је о тунеловању електрона кроз пептидне везе, односно генерално кроз протеински матрикс [8]. Овај механизам такође укључује Asp358 и Phe366 аминокиселинске остатке (слика 5А). Phe366 је просторно-геометријски у идеалној позицији да испоручи електрон флавину, али интригантно је то што мутације триптофана из тријаде са фенилаланином (посебно Тгр382Phe и Тгр306Phe) блокирају фотоиндуковани ЕТ *in vitro* [52], али су без утицаја *in vivo*. Реч је о циљаним мутацијама, при чему се изразити електрон дозор – Тгр (или Туг) замењује са Phe који нема способност да преда електрон и тиме блокира електрон трансферни низ/пут до флавина.

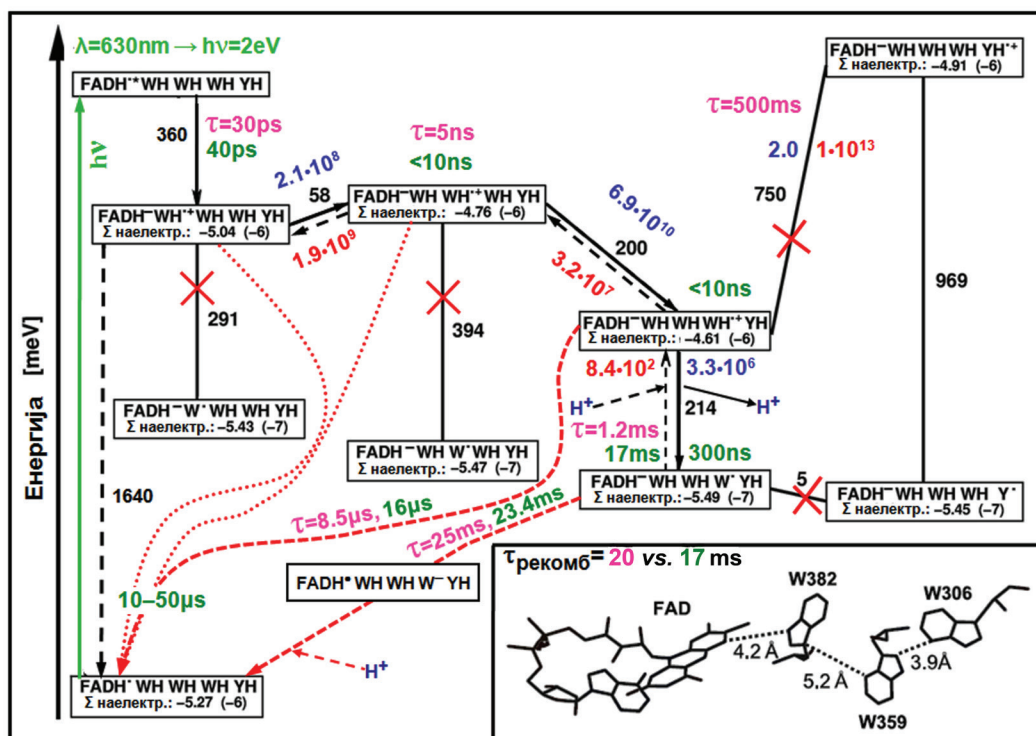
Са недавним открићем да неки CPF ензими имају по две Тгр-триаде до FAD кофактора, од којих се она друга поклапа са Тгр-триадам у класи II фотолиаза [34], можда је дошло време да се редифинише фотоактивациони процес *in vivo*.

Поред тога, у живим ћелијама су присутни одговарајући редукујући агенси, који могу доста дуго да стабилизују редуковани FADH<sup>-</sup> облик каталитичког кофактора, као и оксидационо/протонационо стање Тгр-тријаде и тиме значајно одложе или спрече рекомбинациони процес; што би значило да нема потребе за фоторедукцијом кофактора који је већ у FADH<sup>-</sup> облику. Када се из одређеног физиолошког разлога каталитички кофактор реоксидује, онда ензим има потребу да покрене фотоактивациони процес *in vivo*. Дакле, физиолошка улога и значај фотоактивације је у конвертовању и одржавању каталитички активног кофактора у редукованом FADH<sup>-</sup> облику.

### Кораци у фотоактивационом механизму

Роровић et al., [40] су детаљно студирали енергетски профил фотоактивационог процеса *in vitro* у фотолиазе из *E. coli* (1DNP [30]), који укључује све релевантне интермедијере, протонациона и редокс стања свих кључних актера процеса (слика 9).

Одређена су стања протоновања свих титрабилних аминокиселинских остатака, фосфатних група и фолне киселине, оксидо-редукциони потенцијали Тгр из тријаде и Туг464, као и термодинамика (слободне енергије) и кинетика процеса (брзине реакција). Термодинамички параметри су добивени применом континуум електростатичког метода. Вредности брзина електрон трансфер реакција израчунате су на основу Маркусове теорије ЕТ и Пеиц-Датонове (Page-Dutton) семи-емпиријске једначине, док је енергија прелазних стања и енергетских баријера добијена применом теорије прелазног стања (transition state theory). Поред тога, испитиван је утицај рН на енергије депротоновања триптофанских катјон радикала, као и рН-зависност редокс потенцијала Тгр и Туг у воденој средини и фотолиазе. На основу поменутих прорачуна формиран је енергетски профил трансфера радикала током фотоактивационог процеса



Слика 9. Енергетски дијаграм са реакционом шемом за процес фотоактивације код ДНК фотолиазе из *E. coli* [30]. Означена су оксидациона и протонациона стања: FAD, триптофанске триаде (Trp382-Trp359-Trp306) и Trp464, у датом редоследу, заједно са израчунатим укупним наелектрисањем и формалним наелектрисањем протеина. Вертикалне линије су повезане са променама у електронској структури и протонационом стању, док косе линије означавају ЕТ процесе. Дати бројеви црне боје показују разлику у слободној енергији у meV између два интермедијарна стања ензима. Експерименталне вредности временских константи (time constant,  $\tau = 1/k$  [ps, ns, ms]) дате су бројевима зелене боје, а теоријски израчунате вредности су љубичасте боје. Израчунате вредности брзина директних реакција ( $k$  [s<sup>-1</sup>]) су плаве, а повратних реакција црвене боје. Зеленом вертикалном стрелицом је приказана директна ексцитација главне хромофоре FAD из основног (FADH<sup>•</sup>) у ексцитовано (FADH<sup>•\*</sup>) стање фотоном плаве светлости ( $\lambda = 630$  nm тј.  $E = 2$  eV). Без присуства спољњег редукционог агенса, систем се спонтано враћа у основно стање током рекомбинационог процеса са временском константом,  $\tau_{\text{рекомб}} = 17\text{-}20$  ms.

код фотолиазе из *E. coli* на pH=7.4 (слика 9). Сви прелази означени црвеним крстићем нису вероватни/могући, зато што су или превише ендергони и спори (формирање Trp464H<sup>•\*</sup>) или имају превисоку активациону баријеру прелазног стања. Тако, депротоновање катјон радикала Trp382H<sup>•+</sup> или Trp359H<sup>•+</sup> формираних дубоко у унутрашњости протеина је енергетски веома повољно, али иде са високом енергијом прелазног стања, јер нема једноставног начина да се протон пренесе на неку другу групу или до спољашње водене средине. Брзина овог процеса је зато веома спора у поређењу са компетативним трансфером електрона међу Trp-тријадом (<5 ns).

Такође, је студирана рекомбинација наелектрисања – процес који спонтано води назад до основног стања најнижег у енергији. Без присуства спољашњег редукционог агенса, систем се спонтано реверзибилно враћа у основно стање током рекомбинационог процеса са измереном временском константом,  $\tau_{\text{рекомб}} = 17$  ms (црна испрекидана линија) [36]. Иницијално charge-separated стање је од основног стања више у енергији за 1640 meV. Израчуната  $\Delta G$  дефинисана је редокс потенцијалима  $E_0(\text{TrpH}_{382}/\text{TrpH}^{•+}_{382}) = +1250$  mV,  $E_0(\text{FADH}^-/\text{FADH}^{\bullet}) = -390$  mV, што се добро слаже са експерименталном проценом да је редокс потенцијал Trp у унутрашњости протеина  $\geq +1.1$  V, односно да је за флавин у фотолиази

у опсегу  $-0.33$  до  $-0.5$  V [36]. Постоји неколико других начина да се систем врати у основно стање, а физиолошки релевантни су само они означени црвеним испрекиданим линијама, са (FADH<sup>•</sup>-Trp306H<sup>•\*</sup>) и (FADH<sup>•</sup>-Trp306<sup>•</sup>) интермедијерних стања. Ови интермедијери стоје у динамичкој равнотежи са основним стањем (FADH<sup>•</sup>-Trp306H) [53]. Поред тога, предност оваквог рекомбинационог процеса је у томе што тече егзергоним реакционим путем.

Сумирани резултати прорачуна

- 1) Да би се формирало иницијално charge separated стање са FADH<sup>•</sup> из електронски ексцитованог FADH<sup>•\*</sup> стања, довољна количина енергије ( $\approx 400$  meV) је доступна.
- 2) Први ЕТ (W359→W382) је благо неповољан (+58 meV); други ЕТ (W306→W359) је егзергони са -200 meV, чиме је већ делимично стабилизовано радикалско стање на дисталном W306.
- 3) Депротоновање катјон радикала WH<sup>•\*</sup>306 (pKa = 3.8) води до даље стабилизације од 215 meV. Ово је есенцијалан корак који спречава брзу рекомбинацију наелектрисања и додатно стабилизује FADH<sup>•</sup> каталитички облик кофактора.
- 4) Првобитно се сматрало да процес рекомбинације

наелектрисања је повратни/ реверзибилни процес, при којем доминира репротонација  $W^*306$  са израчунатом временском константом,  $\tau=1.2$  ns. Алтернативни процес рекомбинације наелектрисања тече егзергоним путем преко  $W^*306$ , а даље је завистан од рН. Рекомбинациона кинетика је јако убрзана на нижим рН вредностима. Без присуства спољњег редукционог агенса, систем се спонтано враћа у основно стање са укупном временском константом рекомбинационог процеса од  $\tau_{рекомб.} = 17-20$  ns.

5) Радикалско стање се не преноси на суседни (3.6 Å удаљени) тирозин, јер је ЕТ ( $Y464 \rightarrow W306$ ) исувише ендергони и кинетички спор (500 ns), а директни трансфер атома водоника ( $H^{\bullet}$ ) је вођен високом енергетском баријером прелазног стања (у супротности са фотолизом из *A.nidulans*, где је терминални електрон донор Y468).

6) Купловање специфичних наелектрисаних стања триптофанске триаде са протонационим стањем титрабилних остатака у ензиму је сасвим мало.

7) Ови резултати могу бити релевантни и за друге класе фотолизаза и криптохрома са којима деле високи степен сличности, конзервативну Trp-триаду и каталитички FAD кофактор.

8) Изложеност триптофана спољњем раствору или присуство просторно блиских тирозина на површини протеина могло би да игра важну улогу у дефинисању ЕТ и радикалског пута у овим ензимима.

9) По први пут су рачунарском студијом прецизно одређене вредности редокс потенцијала триптофана и тирозинских остатака у протеинима и њихова рН-зависност тј.  $E_0(TrpH/TrpH^{\bullet+})$ ,  $E_0(TrpH/TrpH^{\bullet})$ ,  $E_0(TyrH/TyrH^{\bullet+})$  и  $E_0(TyrH/TyrH^{\bullet})$ , што је од велике важности и за друге ензимске системе.

## ФОТОРЕПАРАЦИОНИ МЕХАНИЗАМ

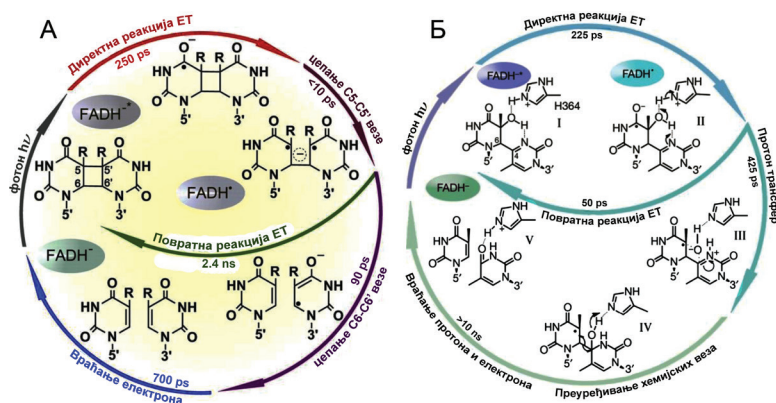
ДНК фотолизаза оправља UV-индукована (200-300 nm) оштећења на ДНК молекулу, цепањем CPD димера на одговарајуће пиримидинске мономере. Главни кораци у фоторепарационом механизму су следећи: 1) апсорпција фотолизазе на ДНК молекул, клизање низ ДНК структуру и скенирање постојећих лезија; 2) препознавање CPD дефекта и структурно-специфично везивање димера за активно место ензима (независно од присуства светлости); 3) екситација фотоактивног FADH<sup>-</sup> кофактора или директно (360 nm) или путем трансфера екситационе енергије са MTHF (UV/VIS светлост, 300-

500 nm); 4) трансфер електрона са екситованог каталитичког кофактора FADH<sup>-</sup> до пиримидинског димера; 5) цепање циклобутанског прстена и повратни трансфер електрона до FADH<sup>-</sup>; 6) десорпција ензима са оправљеног ДНК супстрата. Такође, неке варијације у механизму примећене су у експериментима *in vitro* – Trp277, који се налази близу површине у каталитичком цепању, може да апсорбује UV-фотон ( $\lambda=280$  nm), екситује се и директно реакцијом трансфера електрона, при томе да раздвоји CPD димер на пиримидинске мономере [37].

На основу претходних кристалографских и ултра-брзих спектроскопских кинетичких студија, као и молекулских симулација, већи део репарационог механизма ДНК фотолизазе је структурно и динамички решен [32, 33, 39, 46, 54]. Антена хромофора најпре апсорбује UV/видљиву плаву светлост. Следи трансфер енергије до потпуно редукваног FADH<sup>-</sup> каталитичког кофактора, који га доводи у екситовано FADH<sup>-</sup> стање. У екситованом стању кофактор има потребну енергију за пренос једног електрона до CPD или (6-4) лезије, чиме иницира цепања димера на пиримидинске мономере. Електрон се на крају враћа назад до FADH<sup>-</sup> да би се поново успоставило каталитички активно FADH<sup>-</sup> стање [40, 55]. Како FADH<sup>-</sup> из реакције излази непромењен, он овде обавља улогу катализатора.

Код CPD лезија (слика 10А), једним електроном редукваног циклобутански прстен подлеже симетријски забрањеној (на основу Вудвард-Хофманових правила) [2л+2л] циклореврзибилној реакцији, након чега следи повратни трансфер електрона до семиредукваног FADH<sup>-</sup> [13]. Иницијални трансфер електрона траје 250 ps. Отварање прстена се дешава у два корака, прво иде цепање C5–C5' везе током пар ps, а затим цепање C6–C6' везе са временском константом од 90 ps. Након што је димер подељен, један електрон се враћа назад до FADH<sup>-</sup> са временском константом од око 700 ps [46].

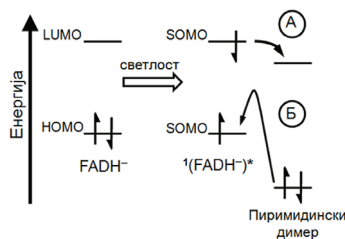
Код (6-4) фотолизазе након екситације (слика 10Б), FAD донира један електрон (6-4) фотопродукту генеришући charge-separated радикалски пар (FADH<sup>•+</sup> (6-4) ФП<sup>•-</sup>), који затим иницира трансфер протона са есенцијалног His364 остатка до (6-4)ФП. Сукцесивни кораци се природно настављају са интрамолекулским трансфером протона са C5–ОН групе са 5' базе на N3 атом на 3' базу, транзитно градећи zwitter-јон. Затим, O атом нуклеофилно напада C4 позицију на 3' бази транзитно градећи оксетански прстен. Транзитно формирање оксетанске структуре олакшава пренос атома кисеоника са 5' на 3' базу, након чега следи цепање C6–C4 везе.



Слика 10. Комплетан реакциони механизам ДНК фотолизазе којим оправља: А) CPD дефекте; Б) (6-4)-фотопродукте. CPD фотолизазе и (6-4) фотолизазе припадају различитим класама ензима, при чему сваки ензим отклања једну врсту дефекта. Кинетика појединачних корака у фотоциклусу је експериментално спектроскопски одређена [46, 54].

После свих ових промена, His остатак се репротонује, а електрон се враћа назад до FADH<sup>•</sup> чиме се поново успоставља активни облик ензима са FADH<sup>•</sup> кофактором. Овим је (6-4) дефект коначно отклоњен [54].

Дијаграм на слици 11 објашњава зашто је ексцитација са фотоном светлости и формирање ексцитованог FADH<sup>•</sup> стања неопходно за репарацију ДНК лезије. Наиме, само ексцитовани FADH<sup>•</sup> каталитички кофактор има довољну енергију и способност да пренесе један електрон на пиримидински димер (А) и тиме започне процес цепања циклобутанског прстена. FADH<sup>•</sup> у основном стању не може да пренесе електрон на CPD димер. После раздвајања димера на пиримидинске мономере, један електрон се враћа назад до FADH<sup>•</sup> (Б) успостављајући FADH<sup>•</sup> кофактор са спареним електронима у НОМО орбитали.



Слика 11. Молекулско орбитални енергетски дијаграм за трансфер електрона између 1(FADH<sup>•</sup>)\* и Pyr<->Pyr фотодимера у основном и ексцитационом стању. А) Егзергони ЕТ са FADH<sup>•</sup>\* на Pyr<->Pyr фотодимер, Б) Ендергони ЕТ са Pyr<->Pyr димера на FADH<sup>•</sup>-. НОМО (Highest Occupied- највиша заузета), LUMO (Lowest Unoccupied- најнижа празна) и SOMO (Semi-Occupied Molecular Orbital- 1e- заузета молекулска орбитала).

## ЗАКЉУЧАК

У знатној мери су проучени и истражени бројни аспекти функционисања различитих класа ДНК фотолизаза, једног од есенцијалних ензима за већину живих организама, који катализује оправку ДНК лезија насталих услед штетног дејства UV зрачења, штитећи при томе ћелијски геном од мутагенних и канцерогених промена, које могу довести и до смрти ћелије/организма. Келнер и Дулбеко открили су постојање фотореактивирајућег ензима независно један од другог још далеке 1949. год., а много година касније, после огромног рада и доприноса од стране великог броја експерименталиста и теоретичара, препознат је огроман значај овог поља истраживања. Нобелови лауреати за хемију 2015. год., Линдал, Санкар и Модрич, награђени су за изучавање и мапирање различитих механизма којима ћелије оправљају оштећену ДНК и тиме чувају генетске информације записане у свом коду. Фундаментална знања како живе ћелије функционишу на молекулском нивоу могу се користити за развој нових анти-канцер третмана и лекова. Тек недавно почела је да се разуме молекуларна комплексности високо софистициране и ефикасне DDR мреже за праћење, сигнализирање и репарацију ДНК оштећења, те стална повезаност и сложена међукомуникација различитих репарационих система и механизма. То

је отворило врата даљим истраживањима у биологији, биохемији, кристалографији, молекулској биохемији, биоенергетици и медицинској хемији, између осталог.

## ABSTRACT

### PHOTOLYASE – MOLECULAR MECHANISM FOR REPAIR OF UV-DAMAGED DNA

Dragan M. POPOVIĆ

Associate Research Professor, Department of Chemistry, University of Belgrade - Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy - National Institute of the Republic of Serbia, Njegoševa 12, 11000 Belgrade, Serbia

Damages in the DNA structure, such as, excision and modification of bases or alternation of sugar-phosphate groups are often caused by UV light, ionizing radiation, toxic and carcinogenic substances, and environmental pollution. To maintain genetic stability, cells protect themselves against these kinds of lesions. Moreover, the main DNA repair processes in prokaryotic and eukaryotic cells are quite similar. Photolyases catalyze the repair of the most common DNA defects caused by UV (200-300 nm) radiation – cyclobutane pyrimidine (CPD) dimers and (6-4)-photoproducts. The DNA repair is achieved by splitting the ring of CPD dimer into pyrimidine monomers in retro-Diels-Alder reaction induced by near UV/ visible blue light (UV/VIS, 300-500 nm). If not repaired the CPD lesions are highly cytotoxic, mutagenic, and carcinogenic. Molecular mechanism of the enzyme is yet known and pretty well experimentally examined. However, many thermodynamic and kinetic parameters are not easy accessible and could be only obtained by theoretical/computational studies, which results are also discussed here. Beside a general introduction to the photoreactivation mechanism and the structure-function interrelation in the DNA photolyase, this text also addresses a several long-time controversial questions.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] T. Lindahl, Nature 362 (1993) 709–715.
- [2] G. Dianov, T. Lindahl, Curr Biol 4 (1994) 1069–1076.
- [3] A. Sancar, Annu. Rev. Biochem. 65 (1996) 43–81.
- [4] P.J. Pukkila, P. Modrich et al., Genetics 104 (1983) 571–582.
- [5] P.C. Hanawalt, DNA Repair 36 (2015) 2–7.
- [6] S.P. Jackson, J. Bartek, Nat. Rev. 461 (2009) 1071–1078.
- [7] D. Hanahan, R.A. Weinberg, Cell 144 (2011) 646–674.
- [8] A. Sancar, Chem. Rev. 103 (2003) 2203–2237.
- [9] L.F. Batista, Kaina, B., Meneghini, R., Menck, C. F., Mutation research 681 (2009) 197–208.
- [10] P.J. Aucamp, Photochem Photobiol Sci. 6 (2007) 319–330.
- [11] K. Heil, Pearson, D., Carell, T., Chemical Society reviews 40 (2011) 4271–4278.
- [12] G.P. Pfeifer, You, Y. H., Besaratinia, A., Mutation research 571 (2005) 19–31.
- [13] M. Muller, T. Carell, Curr. Opin. Struct. Biol. 19 (2009) 277–285.
- [14] L.O. Essen, Curr. Opin. Struct. Biol. 16 (2006) 51–59.
- [15] J.I. Lucas-Lledo, M. Lynch, Molecular biology and evolution 26 (2009) 1143–1153.
- [16] I. Chaves, Pokorný, R., Byrdin, M. et al., Annu. Rev. Plant Biol. 62 (2011) 335–364.

- [17] M. Ahmad, A.R. Cashmore, Nature 366 (1993) 162–166.
- [18] D.S. Hsu, Zhao, X., Zhao, S., Kazantsev, A., Wang, R. P., Todo, T., Wei, Y. F., Sancar, A., Biochem-US 35 (1996) 13871–13877.
- [19] V.G. Tagua, M. Pausch, M. Eckel, G. Gutiérrez, A. Miralles-Durán, C. Sanz, A.P. Eslava, R. Pokorny, L.M. Corrochano, A. Batschauer, PNAS 112 (2015) 15130–15135.
- [20] I. Oberpichler, Pierik, A. J., Wesslowski, J. et al., PLoS One 6 (2011) e26775.
- [21] A. Okafuji, Biskup, T., Hitomi, K. et al., DNA repair 9 (2010) 495–505.
- [22] T. Todo, Ryo, H., Yamamoto, K., Toh, H., Inui, T., Ayaki, H., Nomura, T., Ikenaga, M., Science 272 (1996) 109–112.
- [23] S. Weber, BBA 1707 (2005) 1–23.
- [24] A. Kelner, Journal of bacteriology 58 (1949) 511–522.
- [25] R. Dulbecco, Nature 163 (1949) 949.
- [26] G.B. Sancar, Mutation research 451 (2000) 25–37.
- [27] C.S. Rupert, J. Gen. Physiol. 45 (1962) 725–741.
- [28] T. Todo, Takemori, H., Ryo, H., Ihara, M., Matsunaga, T., Nikaido, O., Sato, K., Nomura, T., Nature 361 (1993) 371–374.
- [29] C.P. Selby, A. Sancar, Biochem-US 51 (2012) 167–171.
- [30] H.W. Park, Kim, S. T., Sancar, A., Deisenhofer, J., Science 268 (1995) 1866–1872.
- [31] M.G. Rossmann, D. Moras, K.W. Olsen, Nature 250 (1974) 194–199.
- [32] A. Mees, Klar, T., Gnau, P., Hennecke, U., Eker, A. P. M., Carell, T., Essen, L. O., Science 306 (2004) 1789–1793.
- [33] M.J. Maul, Barends, T. R. M., Glas, A. F., Cryle, M. J., Domratcheva, T., Schneider, S., Schlichting, I., Carell, T., Angew. Chem. Int. Edit. 47 (2008) 10076–10080.
- [34] S. Kiontke, Geisselbrecht, Y., Pokorny, R., Carell, T., Batschauer, A., Essen, L. O., EMBO J. 30 (2011) 4437–4449.
- [35] R. Epple, T. Carell, J Am Chem Soc 121 (1999) 7318–7329.
- [36] C. Aubert, M.H. Vos, P. Mathis, A.P.M. Eker, K. Brettel, Nature 405 (2000) 586–590.
- [37] S.T. Kim, Heelis, P. F., Sancar, A., Biochem-US 31 (1992) 11244–11248.
- [38] M.S. Cheung, I. Daizadeh, A.A. Stuchebrukhov, P.F. Heelis, Biophys. J. 76 (1999) 1241–1249.
- [39] J. Antony, D.M. Medvedev, A.A. Stuchebrukhov, J Am Chem Soc 122 (2000) 1057–1065.
- [40] D.M. Popovic, A. Zmiric, S.D. Zaric, E. W. Knapp, J Am Chem Soc 124 (2002) 3775–3782.
- [41] B.J. Vande Berg, G.B. Sancar, J Biol Chem 273 (1998) 20276–20284.
- [42] K.S. Christine, MacFarlane, A. W., Yang, K., Stanley, R. J., J Biol Chem 277 (2002) 38339–38344.
- [43] D.B. Sanders, Wiest, O., J Am Chem Soc 121 (1999) 5127–5134.
- [44] T. Torizawa, Ueda, T., Kuramitsu, S., Hitomi, K., Todo, T., Iwai, S., Morikawa, K., Shimada, I., J Biol Chem 279 (2004) 32950–32956.
- [45] Y.T. Kao, Tan, C., Song, S. H., Ozturk, N., Li, J., Wang, L., Sancar, A., Zhong, D., J Am Chem Soc 130 (2008) 7695–7701.
- [46] Z. Liu, Tan, C., Guo, X., Kao, Y. T., Li, J., Wang, L., Sancar, A., Zhong, D., PNAS 108 (2011) 14831–14836.
- [47] G. Payne, Heelis, P. F., Rohrs, B. R., Sancar, A., Biochem-US 26 (1987) 7121–7127.
- [48] J. Moldt, Pokorny, R., Orth, C., Linne, U., Geisselbrecht, Y., Marahiel, M. A., Essen, L. O., Batschauer, A., J Biol Chem 284 (2009) 21670–21683.
- [49] C. Aubert, P. Mathis, A.P.M. Eker, K. Brettel, PNAS 96 (1999) 5423–5427.
- [50] B. Giovani, Byrdin, M., Ahmad, M., Brettel, K., Nat Struct Biol 10 (2003) 489–490.
- [51] I.H. Kavakli, Sancar, A., Biochem-US 43 (2004) 15103–15110.
- [52] M. Byrdin, A.P.M. Eker, M.H. Vos, K. Brettel, PNAS 100 (2003) 8676–8681.
- [53] M. Byrdin, V. Sartor, A.P.M. Eker, M.H. Vos, C. Aubert, K. Brettel, P. Mathis, BBA 1655 (2004) 64–70.
- [54] J. Li, Liu, Z. Y., Tan, C., Guo, X. M., Wang, L. J., Sancar, A., Zhong, D. P., Nature 466 (2010) 887.
- [55] A. Stuchebrukhov, PNAS 108 (2011) 19445–19446.



**АЛЕКСАНДРА СТЕФАНОВИЋ**, студент докторских академских студија из биохемије  
Катедра за биохемију, Универзитет у Београду - Хемијски факултет, Студентски трг 12-16,  
Београд, Република Србија.  
Е-пошта: [astefanovic496@gmail.com](mailto:astefanovic496@gmail.com)

## ИЗМЕЋУ ЉУБАВИ И МРЖЊЕ: КАРЦИНОМ И РЕАКТИВНЕ ВРСТЕ UV-ИНДУКОВАНИХ ДНК ЛЕЗИЈА

Од зачећа до смрти циљ организма је одржање хомеостазе. То је динамичка равнотежа у којој организам функционише као савршено усклађена машина. Када ова машина изађе из свог равнотежног стања, под утицајем промена у спољашњој и/или унутрашњој средини, неутралисање ових промена може бити успешно, када организам поново успоставља хомеостазу, или безуспешно, када долази до развоја патолошког стања. Болести срца и канцери су два водећа узрока смрти у свету. Карцином представља патолошко стање које у основи карактерише неконтролисана пролиферација (умножавање) ћелија. У оквиру овог текста видећемо како хемијски реактивне врсте могу бити и пријатељи и непријатељи развитка карцинома, тј. у борби организма да спречи ову патологију. Ова игра мачке и миша се

одиграва свакодневно у свим нашим ћелијама и леп је пример за неке од механизма одржања хомеостазе.

### УВОД

Наше ћелије и макромолекули у њима се свакодневно сусрећу са великим бројем хемијски веома реактивних врста. У две главне групе таквих супстанци (атоми, молекули, јони) убрајамо реактивне врсте пореклом од молекулског кисеоника (ROS; енгл. Reactive oxygen species) и реактивне врсте пореклом од азота (RNS; енгл. Reactive nitrogen species). Ове врсте могу бити радикаског и не-радикаског типа (Табела 1).



Табела 1. Подела и неки примери реактивних врста у живим системима [1].

Радикалске реактивне врсте		Нерадикалске реактивне врсте	
Назив	Формула	Назив	Формула
супероксид анјон	$O_2^{\bullet -}$	водоник-пероксид	$H_2O_2$
хидроксил	$\bullet OH$	синглетни кисеоник	$^1O_2$
азот(II)-оксид	$NO^{\bullet}$	озон	$O_3$
пероксил	$ROO^{\bullet}$	хипохлоритна киселина	$HClO$
алкокси	$RO^{\bullet}$	пероксинитрит	$ONOO^{\bullet}$
сулфонил	$ROS^{\bullet}$	нитрокарбонат анјон	$O_2NOCO_2^-$
тиил-пероксил	$RSOO^{\bullet}$	нитронијум јон	$NO_2^+$

Радикалске врсте карактерише присуство неспареног електрона у последњем енергетском нивоу, што их чини изузетно хемијски реактивним [1]. Конверзијом неких нерадикалских врста могу се добити радикалске врсте. И једне и друге учествују у нормалној биохемијској сигнализацији унутар ћелија, што укључује регулацију експресије гена (синтеза протеина) и контролу активности створених протеина. У веома ниским концентрацијама, реактивне врсте имају важну улогу у одбрани организма од патогена, док у већим изазивају оксидативни стрес и утичу на развој патолошких стања [2]. Биохемијске улоге реактивних врста предмет су изучавања већ десетинама година. Истраживања су показала да оне представљају фино регулисане сигналне молекуле, који нам у једном моменту могу бити пријатељи, а већ у следећем љути непријатељи.

### 1. РЕАКТИВНЕ КИСЕОНИЧНЕ ВРСТЕ И ЊИХОВИ ИЗВОРИ

Извори реактивних кисеоничних врста могу бити егзогени (из спољашње средине) и ендогени (настају унутар организма) [1]. Егзогени извори укључују ROS настале као последица неадекватног и нездравог начина живота: стрес, алкохол, нездрава исхрана, пушење, итд. Ендогени извори су, у ширем смислу, ћелијске структуре, које током биохемијских процеса производе ROS неопходне за функционисање организма. Најважнији извори ROS су митохондрије и пероксисоми. ROS настају и током инфламационих (упалних) процеса, услед активности ћелија имуног система, попут макрофага, што повећава концентрацију цитокина и фактора раста у циркулацији. Ниво ROS у ћелији је под стриктном хомеостатском контролом, због многобројних негативних ефеката које могу да изазову. Како би одржала одговарајући (ни премали, ни превелики) ниво ROS, ћелија производи антиоксидативне ензиме, којима неутралише и елиминише реактивне врсте, одржавајући жељену равнотежу. ROS су повезане са многим патолошким стањима, од који ће у оквиру овог чланка бити обрађен карцином, који настаје услед неконтролисаних пролиферација ћелија. Сматра се да

управо ROS, и сигнални путеви у којима они учествују, имају кључну улогу у регулацији пролиферације и преживљавању ћелија. Повећано стварање ROS у ћелији води у повећан оксидативни стрес [1]. Оксидативни стрес је резултат дисбаланса између настанка ROS и механизма антиоксидативне одбране који ограничавају њихов ниво у ћелији [3]. ROS могу имати директан штетан ефекат по ћелију, када оксидативно оштећују биомолекуле (ДНК, липиди, протеини), а делују и посредно, укључивањем и/или искључивањем сигналних путева који учествују у регулацији експресије гена који доводе до пролиферације, апоптозе, или миграције ћелије [1].

У развоју карцинома најзапаженију улогу имају супероксидни анјон радикал, водоник-пероксид и хидроксилни радикал [4]. Супероксид настаје у ензимски катализованом реакцији, аутооксидацијом и у не-ензимским реакцијама које укључују трансфер електрона; главно место настанка су митохондрије. Ензими који учествују у производњи овог ROS су ксантин-оксидаза, липооксигеназа, циклооксигеназа и NADPH-зависна оксигеназа. Реактивност супероксида према биомолекулама је релативно мала, а на ниским рН вредностима, овај радикал се може наћи у облику  $HO_2$  [1]. Водоник-пероксид настаје у реакцијама дисмутације, катализоване супероксид-дисмутазом (SOD; енгл. *Superoxide dismutase*). Важна карактеристика водоник-пероксида је да лако и брзо дифундује кроз ћелијске мембране, тако да је овај молекул важан посредник у многим сигналним путевима. Из водоник-пероксида настаје хидроксилни радикал у тзв. Фентоновој реакцији (Слика 1). То је изузетно реактивна врста, која директно оштећује све биомолекуле са којима дође у контакт [4].

Ћелије карцинома по правилу карактерише повишени ниво реактивних кисеоничних врста, које настају као последица интензивних метаболичких процеса, дисфункције митохондрија, активности пероксисома, повећане ћелијске сигнализације, активности онкогена (мутирани про-онкогени протеини), повећане активности ензима који стварају реактивне врсте (оксидазе, циклооксигеназе, липоксигеназе, тимидин-фосфорилаза), или кроз комуникацију са ћелијама имуног система.

Настанак реактивних кисеоничних врста у митохондријама

Митохондрије су органеле задужене за енергетски метаболизам ћелије. Њихову структуру карактерише присуство две мембране (спољашња и унутрашња), између којих се налази међумембрански простор (матрикс). На унутрашњој мембрани митохондрија се активно одвија процес оксидативне фосфорилације, што је главни извор АТФ-а (енергије) у ћелији (Слика 1). Током овог сложеног процеса, супстрат се оксидује, а електрони преносе кроз електрон-транспортни ланац, сачињен од четири протеинска комплекса. При томе долази до „пумпања“ протона у међумембрански простор, што ће даље омогућити синтезу АТФ (ензим АТФ синтаза). Као споредни производ оксидативне фосфорилације настаје вода, али и супероксидни анјон радикал [5]. Реакција током које настаје супероксид је једно-електронска редукција кисеоника на нивоу респираторног ланца („цу-

рење“ електрона), у комплексима I и III [3].

Већи део (око 80%) насталог супероксида се ослобађа у међумембрански простор, а остатак у митохондријални матрикс. На спољашњој мембрани митохондрија се налази митохондријална пропустљива транспортна пора (MPTP; енгл. *Mitochondial permeability transition pore*), кроз коју се одвија транспорт супероксида у цитосол ћелије. Ензим који има главну функцију у неутралисању супероксидног анјон радикала је супероксид-дисмутаза, која у активном месту има различите прелазне метале. У нашим ћелијама постоји манган супероксид-дисмутаза (MnSOD) и бакар/цинк супероксид дисмутаза (Cu/Zn SOD) [6]. Овај ензим катализује превођење супероксид анјон радикала у водоник-пероксид. Конверзију у митохондријалном матриксу обавља MnSOD, а у цитосолу је за то задужена Cu/Zn SOD. Добијени водоник-пероксид дифундује кроз ћелију и ван ње, што је и разлог зашто представља један од важнијих секундарних гласника у ћелијској сигнализацији. Транспорт водоник-пероксида кроз мембрану се одвија посредством аквапорина, фамилије протеина која образује поре у мембранама ћелија. Показано је да неки аквапорини, поред воде, пропуштају и  $H_2O_2$  [4].

Настанак реактивних кисеоничних врста у пероксизомима

Пероксизоми су динамичке и метаболички веома активне органеле, које имају улогу у многим биохемијским процесима, попут  $\beta$ -оксидације масних киселина, биосинтезе липида (холестерола), катаболизма нуклеинских киселина, пуринских база итд. [7]. У пероксизомима настају ROS, и то супероксидни анјон радикал, водоник-пероксид и хидроксилни радикал. Супероксид анјон радикал и водоник-пероксид настају каталитичким деловањем ксантин-оксидазе, ензима који се налази у пероксизомалном матриксу и у мембрани пероксизома [8]. Међутим, он није једини ензим задужен за настанак ROS, с обзиром да се у овим органелама дешава велики број реакција оксидације у

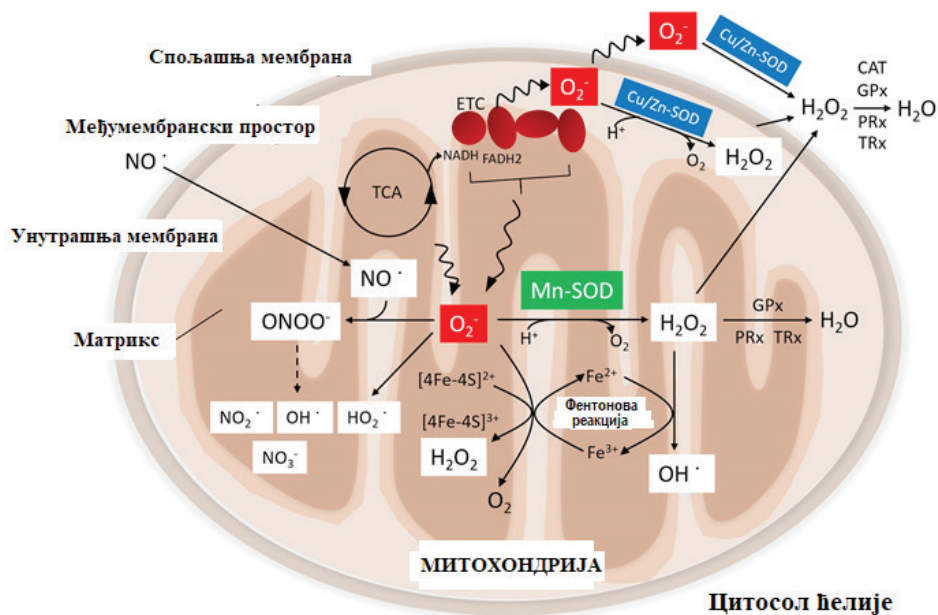
којима учествује молекулски кисеоник као ко-супстрат, при чему као један од производа настаје и водоник-пероксид. Добијени  $H_2O_2$  се даље неутралише деловањем антиоксидативних ензима [9].

Инфламација као узрок настанка реактивних кисеоничних врста

Имуни систем сваког организма представља прву линију одбране која се активира након оштећења ћелије. У том процесу долази до ослобађања цитокина и фактора раста, за које се показало да имају значајну улогу у производњи ROS, пре свега супероксида, водоник-пероксида и азот(II)-оксида [10]. GTP-aza K-ras (енгл. *Kirsten rat sarcoma*) представља један од ензима који се активира деловањем фактора раста, или присуством онкогених мутација које чине овај сигнални протеин стално активним. Активирани ензим повећава производњу ROS у митохондријама, као и преко NADPH-оксидазе. Ензим који игра важну улогу у продукцији ROS је и Rho GTPаза Rac-1, коју активира тирозин киназни рецептор c-Met (енгл. *Mesenchymal-epithelial transition factor*), за који се везује хепатоцитни фактор раста. Након активације, Rac-1 (енгл. *Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1*) активира два ензима: NADPH-оксидазу, која производи супероксидни радикал, као и липооксигеназу 5-LOX (енгл. *5-lipoxygenase*), која учествује у производњи  $H_2O_2$ . Током процеса инфламације долази и до настајања азот(II)-оксида, који у реакцији са супероксидом даје пероксинитрит. Ово једињење има сличне (штетне) ефекте као хидроксилни радикал, а учествује у ћелијској апоптози (програмирана смрт ћелије) [10].

## 2. СИСТЕМ АНТИОКСИДАТИВНЕ ОДБРАНЕ ОРГАНИЗМА

Како би се у ћелијама одржао баланс нивоа ROS неопходно је да ћелија поседује ефикасне механизме којима се бори против повећања концентрације ROS (и



Слика 1. Схематски приказ настајања ROS у митохондријама ћелије [6].

других реактивних врста). Молекули који „детоксификују“ организам су не-ензимске и ензимске природе. Не-ензимски молекули су антиоксиданси као што су (редуковани) глутатион, флавоноиди, или витамини А, С и Е, док у ензимске молекуле антиоксидативне одбране убрајамо и супероксид-дисмутазе, каталазу, глутатион-пероксидазе и пероксиредоксин. Сви наведени ензими неутралишу ROS кроз оксидо-редукционе реакције [10].

Супероксид-дисмутаза (SOD) је, како је речено, металоензим који у активном месту садржи кофакторе ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ , или  $\text{Fe}^{2+}$ ). Ове изоензимске форме су локализоване у различитим деловима ћелије: MnSOD у митохондријалном матриксу, а Cu/ZnSOD у цитосолу ћелија човека. Све катализују исту реакцију, превођење супероксида у водоник-пероксид [11]. Каталаза (CAT) је један од антиоксидативних ензима који убрзава превођење насталог  $\text{H}_2\text{O}_2$  (деловањем дисмутазе) у нереактивну воду и молекулски кисеоник. Главно место деловања каталазе су пероксизоми и цитосол [9].

Пероксиредоксин (Prx, енгл. Peroxiredoxin) је тиоредоксин-пероксидаза, која катализује редукцију водоник-пероксида, органских хидропероксида и пероксинитрита. Дели се на типичне 2-цистеин пероксиредоксине (Prx I-IV), атипичне 2-цистеин пероксиредоксин (Prx V) и 1-цистеин пероксиредоксин (Prx VI). Тиоредоксински систем чини тиоредоксин и тиоредоксин-редуктаза. Тиоредоксин у каталитичком месту садржи два остатка цистеина, који прелазе из оксидованог (дисулфидног) облика у редуковани (дитиолни). Тиоредоксин-редуктаза користи NADPH као донор електрона, у процесу у којем кроз низ редокс реакција долази до редукције водоник-пероксида до воде. Поред тога што неутралише реактивне врсте кисеоника, тиоредоксински систем одржава протеине у њиховом редукованом облику, што спречава настанак оштећења проузрокованих оксидативним стресом [4].

Глутатионски систем се састоји од (редукованог) глутатиона (GSH) и ензима глутатион-редуктазе (GR), глутатион-пероксидазе (GPx) и глутатион S-трансферазе (GST). Глутатион штити ћелије од оксидативног стреса, редукуюћи дисулфидне везе у протеинима до остатака цистеина. Током овог процеса долази до оксидације глутатиона до глутатион-дисулфида (GSSG). Глутатион-пероксидаза катализује редукцију водоник-пероксида до воде, пре чему се глутатион такође оксидује. Глутатион-редуктаза редукује (враћа) GSSG до GSH; донор електрона у овој рекацији је NADPH [4].

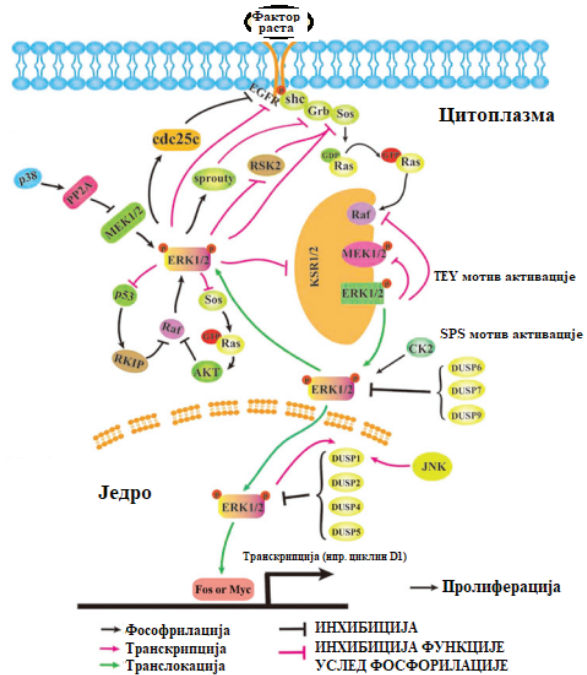
### 3. СИГНАЛНИ ПУТЕВИ НА КОЈЕ УТИЧУ РЕАКТИВНЕ КИСЕОНИЧНЕ ВРСТЕ

Као секундарни гласници, реактивне кисеоничне врсте учествују у великом броју сигналних путева у ћелији. Крајњи исход њиховог деловања може бити пролиферација и диференцијација, преживљавање ћелије, али и инфламација. Главни ROS-секундарни гласник је водоник-пероксид, који има способност реверзибилне оксидације, што регулише активност циљних протеина [12]. Дисрегулација три доле наведена сигнална пута највише доприноси преживљавању и даљем умножавању канцерских ћелија.

### MAPK/Erk 1/2 сигнални пут

MAPK (енгл. Mitogen-activated protein kinase) / Erk 1/2 (енгл. Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2) је од Ras протеина завистан сигнални пут који се активира факторима раста. Резултат активације ове сигналне каскаде је пролиферација ћелија; информације из спољашње средине се преводу у унутраћелијске сигнале који омогућавају ћелији да уђе у процес деобе (прелазак из G1 у S фазу ћелијског циклуса). Кључни део овог сигналног пута чине протеинске киназе, које кроз сукцесивне нисходне фосфорилације доводе до активације циљних гена [13]. Једна компонента је и мултифункционална серин/треонин киназа Erk 1/2, на чију активност утиче водоник-пероксид. Erk 1/2 фосфорилише многобројне супстрате, као што су друге протеинске киназе и сигнални ефектори, нуклеарни транскрипциони регулатори, али и неки рецептори.

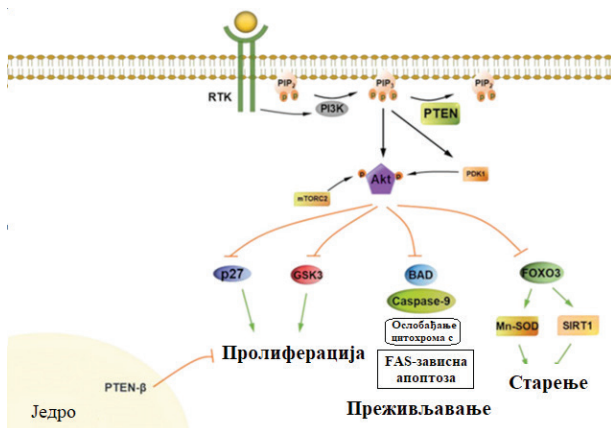
Након фосфорилације и активације, овај ензим може да пређе у једру, где такође обавља своју функцију [14]. На активност Erk 1/2 утичу реактивне врсте преко Ras и  $\text{p90}^{\text{RSK}}$  протеина. Водоник-пероксид делује на Ras, узводни (у сигналном путу) активатор Erk 1/2, тако што оксидативном модификацијом остатка цистеина спречава GDP/GTP замену, и тако активацију овог малог G протеина. Друго место деловања ROS је  $\text{p90}^{\text{RSK}}$ , протеинска киназа која такође активира Erk 1/2. Повећана активност Erk 1/2 и губитак активности инхибитора MKP 2 (енгл. Mitogen-activated protein kinase phosphatase-2) повећавају стопу преживљавања и пролиферације канцерских ћелија [4]. Erk 1/2 може бити активиран и мутацијама у Ras и Raf које доводе до хиперактивације ова два ензима, који постају конститутивно (стално) активни [13]. Активирана Erk 1/2 у једру има улогу узводног активатора транскрипционих фактора, укључујући Elk1, c-Myc, потом сигналне трансдучере и активаторе транскрипције (STAT; енгл. Signal transducer and activator of transcription), c-Jun и c-Fos (Слика 2) [14].



Слика 2. Приказ MAPK/Erk 1/2 сигналног пута као одговор на факторе раста (адаптирано из [13]).

### PI3K/Akt сигнални пут

Још један значајни сигнални пут у регулацији ћелијског циклуса укључује PI3K (енгл. Phosphatidylinositol-3-kinase) /Akt (енгл. A serine/threonine protein kinase) сигналну каскаду. Akt (протеин киназа Б) је протеин чија улога се огледа кроз фосфорилацију и инактивацију про-апоптоских протеина, што за последицу има преживљавање ћелије. Активација овог протеина се постиже и преко епителјалног фактора раста (EGF, енгл. Epidermal growth factor), посредством повећаног настајања водоник-пероксида. Активност Akt је контролисана киназама PDK-1 (енгл. Phosphoinositide-dependent kinase-1), mTOR (енгл. Mechanistic target of rapamycin) и PI3K, који сви имају позитиван ефекат на активност Akt, односно PTEN (енгл. Phosphatase and tensin homolog), који смањује активност Akt. Показано је да PDK-1 активира повећан оксидативни стрес, када заједно са mTOR фосфорилише Akt, и на тај начин учествује у његовој активацији. PI3K је киназа која учествује у формирању липидног другог гласника PIP<sub>3</sub> (енгл. Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate), који у ћелијској мембрани представља сидро за Akt [15]. За разлику од PI3K, PTEN смањује ниво PIP<sub>3</sub>, тако што дефосфорилише PIP<sub>3</sub>, преводећи га назад у PIP<sub>2</sub> (енгл. Phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphate); ово смањује активност Akt киназе [16]. PTEN је прва фосфатаза која је класификована као тумор супресор. Про-апоптоски протеини који су мета деловања Akt протеина су и транскрипциони фактори Bad (енгл. Bcl2 associated agonist of cell death), Bax (енгл. Bcl-2-associated X protein), Bim (енгл. Bcl-2-like protein 11) и FOXO (енгл. Forkhead box O). Инактивација PTEN доводи до хиперактивације Akt, што инактивира FOXO, који потом смањује експресију антиоксидативних ензима SOD и GPx (слика 3). Последице су нагомилавање ROS и оштећења ДНК молекула, што може да покрене карциногенезу [15]. Водоник-пероксид, поред тога што учествује у активацији Akt, паралелно инактивира PTEN, што додатно фаворизује преживљавање ћелије [17]. Инактивација PTEN од стране ROS заснива се на редокс модификацији остатака цистеина у активном месту ензима [16].



Слика 3. Схема преноса сигнала у ћелији преко PI3K/Akt пута (адаптирано из [16]).

### IKK/NF-κB сигнални пут

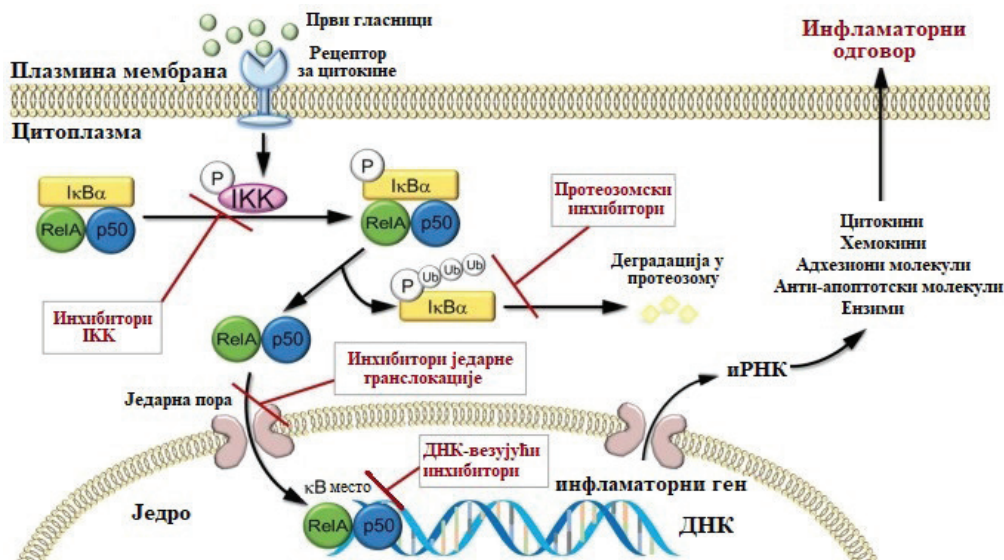
IKK (енгл. IκB kinase) / NF-κB (енгл. nuclear factor kappa B) је сигнални пут који када је активиран води

преживљавању ћелија. NF-κB је транскрипциони фактор чија је активност услед мутација повећана у великом броју карцинома. Поред преживљавања ћелије, NF-κB позитивно утиче и на пролиферацију, али и резистенцију ћелије на лекове и ћелијску адхезију. Овај протеин се састоји из пет субјединица: Rel (cRel), p65 (RelA, NF-κB3), RelB, p105/p50 (NF-κB1) и p100/p52 (NF-κB2). p65, cRel и RelB садрже N- терминални Rel хомологни домен (RHD; енгл. Rel homology domain) и C-терминални трансактивациони домен (TAD; енгл. Transactivation domain), док p50 и p52 садрже само RHD, не и TAD. RHD домен је одговоран за везивање за молекулу ДНК, као и за димеризацију, са истим или различитим члановима фамилије [18]. Под физиолошким условима, NF-κB је инактивиран, везивањем за IκB протеин који онемогућава прелазак NF-κB у једро, где обавља улогу активатора транскрипције. Сигнална каскада која прекида везу између ова две протеина укључује активацију NIK (енгл. NF-κB inducing kinase), IKKα/β и NEMO (енгл. NF-κappa-B essential modulator), од стране TNFα (eng. Tumor necrosis factor α), или IL-1 (енгл. interleukin-1) као првог гласника. Активација ове сигналне каскаде доводи до фосфорилације IκB, који се одваја од NF-κB и брзо бива деградован у протеозому ћелије. NF-κB сада може да уђе у једро ћелије, где стимулише експресију анти-апоптоских и анти-инфламаторних гена [4]. Улога ROS у активацији овог пута се огледа кроз повећану активност TNFα и IL-1 (Слика 4).

### 4. РЕАКТИВНЕ КИСЕОНИЧНЕ ВРСТЕ И КАНЦЕРСКЕ ЋЕЛИЈЕ

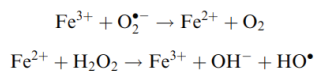
Улоге реактивних кисеоничних врста у пролиферацији, хипоксији и ангиогенези

Ћелије изложене високом нивоу ROS карактерише процес пролиферације, што је и дефинишућа карактеристика канцерских ћелија. Бројна истраживања су показала да метаболизам и садржај ROS у митохондријама посредује како у пролиферацији, тако и у мировању ћелија карцинома. Ова реципрочна регулација је описана кроз призму регулисања нивоа експресије MnSOD [4]. Показано је да када је експресија овог антиоксидативног ензима ниска тада долази до пролиферације ћелија, услед нагомилавања супероксид анјон радикала; повећана експресија MnSOD одржава ћелију у стању мировања, услед повећане концентрације водоник-пероксида. Разлог за овакве ефекте је редокс потенцијал супероксид анјон радикала и водоник-пероксида, који директно делују на HIF-1α (енгл. Hypoxia-inducible factor 1α). Протеин HIF-1α у свом активном месту садржи атом гвожђа; када је ензим активан, оксидационо стање је Fe<sup>2+</sup>. Уколико је у ћелији смањена експресија MnSOD, нагомилава се супероксидни анјон радикал, који редукује гвожђе из оксидационог стања +3 у +2 (Слика 5), што има позитиван ефекат на активност HIF-1α. Супротно томе, водоник-пероксид, када је његова концентрација у ћелији далеко изнад базалног нивоа, оксидује атом гвожђа у фери облик (Слика 5), делујући инхибиторно на активност HIF-1α. Активиран HIF-1α је транскрипциони активатор гена за VEGF (енгл. Vascular endothelial growth factor), који је први гласник и у процесу ангиогенезе [19]. Ангиогеназа је процес неоваскуларизације, који



Слика 4. Схема преноса сигнала преко IKK/NF-κB пута: резултат је инфламаторни одговор ћелије (адаптирано из [4]).

се карактерише растом нових крвних судова. Описани механизам регулације активности сигналних протеина је леп пример како реактивне врсте могу имати различити ефекат на процесе у ћелији у зависности од своје концентрације. Тако, базални ниво водоник-пероксида модулише преживљавање ћелија карцинома, док његов висок ниво може имати и позитиван ефекат, уводећи ћелије карцинома у период мировања.



Слика 5. Различити ефекат ROS на оксидационо стање гвожђа у протеинима.

Активност HIF-1 у физиолошким условима је посредована од кисеоника зависном пролил-хидроксилазом (PHD; енгл. *Prolyl hydroxylase domain enzyme*), као и VHL (енгл. *Von Hippel-Lindau*) убиквитин-лигазом. Активација HIF-1, са друге стране, регулисана је и Akt сигналним путем, коју активирају фактора раста као први, а и ROS као други гласници. Активирани Akt утиче на активност HIF-1, а затим и на експресију VEGF. Испитивања су показала да пацијенти изложени инхибиторима PTEN (негативног регулатора Akt) имају високу секрецију VEGF. Као негативни регулатор PTEN коришћена је каталаза. Смањење концентрације и/или активности антиоксидативних ензима доводи до нагомилавања ROS, који потом негативно регулишу PTEN [4, 16].

Улога реактивних кисеоничних врста у апоптози

Апоптоза представља програмирану ћелијску смрт, пожељан догађај када су у питању ћелије карцинома. До апоптозе доводи непропорционално повећање нивоа реактивних кисеоничних врста у ћелији, као последица хемиотерапије, нефункционалности антиоксидативних ензима, или генерисања ROS од стране ћелија имуног система. До повећања нивоа ROS може доћи и активацијом преноса сигнала која укључује Rac-1/NADPH-оксидаза сигнални пут. Један од начина на који долази до апоптозе, када ROS изађу из митохондрија, је активација JNK (енгл. *c-Jun N-terminal kinases*), ензима из групе

киназа. Овај ензим је активиран посредством Ask-1 (енгл. *Apoptosis signal-regulating kinase 1*), чију активност регулишу интеракције са тиоредоксином. У редукованој форми, тиоредоксин везује и инхибира Ask-1. JNK затим фосфорилише и снижава активност анти-апоптотских протеина Bcl-2 и Bcl-XL. Даље, JNK повећава експресију Вах протеина и фаворизује настанак Вах хомодимера, спречавајући настанак комплекса Вах/Bcl-2 који има анти-апоптотску активност. Поред JNK, посредством Ask-1 активирани су и FOXO, p66Shc и p53 протеини [4].

Повећање нивоа ROS доводи до оксидативног стреса у митохондријама, што изазива ослобађање цитохрома c, активирање ензима каспаза и преко њих процес програмиране ћелијске смрти. Један од протеина који у томе учествује, преко повећаног настајања ROS, је TNF рецептор, такође и TRAF4 (енгл. *TNF receptor associated factor 4*) компонента TNFα сигналног пута, која се везује за NADPH-оксидаза комплекс, водећи ка активацији JNK [3]. Занимљиво, TNF-индуковани оксидативни стрес има улогу и у експресији анти-апоптотских гена, активацијом NF-κB сигналног пута који директно индукују експресију гена који кодирају MnSOD и каталазу. И у овом случају можемо видети како смер догађаја у ћелији зависи од нивоа ROS; низак ниво ће довести до преживљавања ћелије карцинома, док ће висок имати потпуно супротан ефекат [20].

Улога реактивних кисеоничних врста на покретљивост ћелија и метастазу

Свака ћелија нашег организма је у сталном је контакту са ванћелијским матриксом. Ванћелијски матрикс чине све компоненте неког ткива које не улазе у састав ћелија које творе то ткиво. Како би се одиграла митоза, неопходно је да ћелија буде усидрена у овај матрикс, чему доприноси фамилија интегрин. Ови протеини остварују функцију преко повећаног нивоа ROS, конкретно, стимулацијом експресије циклооксигеназа и 5-липооксигеназа, као и повећањем броја митохондрија у ћелији. ROS из митохондрија имају кључну улогу током процеса препознавања и „качења“ (адхеције) ћелија за ванћелијски матрикс, док цитосолне ROS имају улогу

у каснијим корацима. Уколико се нетрансформисана ћелија нађе у митози, повећан садржај ROS стимулише експресију гена за Src (енгл. *src*coma), FAK (енгл. *focal adhesion kinase*) и друге тирозин-киназе, са збирним ефектом јаче адхезије, пролиферације и ширења ћелија. Прекид везе између нетрансформисане ћелије и матрикса води ка аноикису, специфичној врсти апоптозе. Ћелије карцинома су заштићене од овог процеса, показујући високу ћелијску пролиферацију независно од усидрења у ванћелијски матрикс. Овакав образац понашања има за последицу да ћелије карцинома опстају у окружењу које није њихово изворно, као и да мигрирају на удаљена места, што представља процес метастазе [4].

Како би нека ћелија мигрирала неопходно је да прође кроз процес епителнијално мезенхималне транзиције. Главну улогу у овом процесу имају металопротеиназе (MMP; енгл. *Matrix Metalloproteinase*), ензими који разграђују везу између ћелије и базалне мембране. Активација Ras протеина и продукција ROS доводи до активације NF- $\kappa$ B сигналног пута, што води у продукцију MMP. Матриксне металопротеиназе потом разлажу и ремоделирају ванћелијски матрикс. Њихова повећана активност се повезује са растом тумора, ангиогенезом, повећањем ћелијске инвазије, пенетрације и метастазе. Експресија MMP је инхибирана TIMP протеинима (енгл. *Tissue inhibitors of metalloproteinases*), чију активност такође регулишу ROS. Наиме, супероксид анион радикал се дејством антиоксидативних ензима преводи у водоник-пероксид, који затим активира сигналне путеве (Ras-Erk1/2-Ets; Rac-1-JNK-AP-1 и p38) који доводи до повећане експресије MMP. Метастаза ћелија карцинома постиже се и повећањем васкуларне пермеабилности, активацијом Rac-1 сигналног пута у примарним ендотелним ћелијама, што заједно изазива губитак међућелијске адхезије и олакшава кретање канцерских ћелија [21].

Реактивне кисеоничне врсте и стем ћелије карцинома

Једна од карактеристика карцинома је повратак болести у највећем броју случајева. Један од узрочника тога су канцерске стем ћелије које карактерише већа стопа преживљавања у односу на остале канцерске ћелије, као и толеранција на уобичајене медицинске третмане. Изворна или матична (енгл. *stem*) ћелија је недиференцирана ћелија са неограниченом способношћу деобе. Већ је наведено да канцерске ћелије карактерише висок ниво ROS. Стем ћелије канцера су изузетак: оне су богате антиоксидативним ензимима, који држе под контролом настајање ROS. Висок антиоксидативни капацитет им омогућава да „преживе“ антиканцерске терапије. За то су заслужни гени за које је показан висок ниво експресије, а диригују синтезу глутатион-синтетазе и глутаматцистеин-лигазе, два ензима који учествују у синтези (редукованог) глутатиона [4]. Запажена је и висока експресија FOXO1 протеина, који је, како је речено, транскрипциони фактор који активира синтезу анти-апоптоских протеина и анти-оксидативних ензима [22].

## ЗАКЉУЧАК

Током деценија истраживања везаних за реактивне врсте и развој карцинома, увидело се да је ниво ROS кључан за регулацију овог процеса. Реактивне врсте несумњиво имају физиолошки изузетно важну улогу

секундарних гласника у нашим ћелијама. Проблем настаје када се ћелија нађе у условима где долази до поремећене хомеостазе, када ниво реактивних врста премашује капацитет одбрамбене машинерије организма. Међутим, и у тим условима реактивне врсте немају нужно лош ефекат. Истина, повећана концентрација ROS може да доведе до пролиферације и преживљавања туморских ћелија, ангиогенезе и метастазе канцера. Међутим, крајњи резултат може бити и апоптоза, програмирана ћелијска смрт, што је жељени исход када су питању ћелије карцинома. Према томе, реактивне врсте не делимо на (нужно) лоше или добре, већ је важнија њихова концентрација и, са тим повезана, активност других компоненти у сигналним путевима унутар ћелије на које оне утичу. Стем ћелије канцера преживљавају и најјаче терапије, пошто имају изузетно висок ниво антиоксидативне одбране. Реактивне врсте активацијом различитих сигналних путева могу ћелију довести и у апоптоско и у анти-апоптоско стање. Сложеност и изпреплетеност мреже сигналних путева у ћелијама нашег тела представља велики изазов за научнике, у проналажењу механизма настанка специфичних болести, што карцином свакако јесте. Сваки тип канцера је окарактерисан још увек непотпуно проученим поремећајима у сигналним путевима. Њихово детаљно познавање је предуслов у трагању за терапијским приступом који би могао да доведе до специфичног уништења ћелија карцинома.

ABSTRACT

## BETWEEN LOVE AND HATE: CANCER AND REACTIVE SPECIES

Aleksandra Stefanović, doctoral student in biochemistry

From conception to death, the goal of the organism is to maintain homeostasis. Homeostasis is a balance in which the organism functions as a perfectly coordinated machine. Sometimes that machine can get out of its equilibrium state, neutralizing that change can be successful and then the organism re-establishes homeostasis or it can be unsuccessful, when a pathological condition develops. The game of cat and mouse takes place daily in our cells, and reactive species and antioxidant defense are just one example of regulation that can lead to the development of cancer. Cancer is a pathological condition characterized by uncontrolled cell proliferation. In this text, we will discuss how reactive species can be both friends and enemies in the development of cancer.

Захвалница: Овај текст је проистекао из мог семинарског рада на предмету Слободнорадикалски процеси у биохемији (<https://www.chem.bg.ac.rs/predmeti/481B2.html>). Захваљујем се др Милану Николићу, његовом наставнику, на саветима и помоћи у писању рада.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian J Clin Biochem.* 2015;30(1):11–26.
2. Genestra M. Oxy radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cell Signal.* 2007;19(9):1807–19.
3. Buhlman LM. Mitochondrial mechanisms of degeneration and repair in parkinson's disease. *Mitochondrial Mech Degener Repair Park Dis.* 2016;1–275.
4. Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res.* 2010;44(5):479–96.

- Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S, et al. Mitochondrial superoxide: Production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radic Biol Med.* 2004;37(6):755–67.
- Kitada M, Xu J, Ogura Y, Monno I, Koya D. Manganese superoxide dismutase dysfunction and the pathogenesis of kidney disease. *Front Physiol.* 2020;11:1–16.
- Sandalio LM, Rodríguez-Serrano M, Romero-Puertas MC, del Río Luis A. Role of peroxisomes as a source of reactive oxygen species (ROS) signaling molecules. *Subcell Biochem.* 2013;69:231–55.
- Bonekamp NA, Völk A, Fahimi HD, Schrader M. Reactive oxygen species and peroxisomes: Struggling for balance. *BioFactors.* 2009;35(4):346–55.
- Titorenko VI, Rachubinski RA. The peroxisome orchestrating important developmental decisions from inside the cell. *J Cell Biol.* 2004; 164(5): 641–645.
- Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol.* 2014;24(10):R453–62.
- Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Adv.* 2015;5:27986–28006
- Tada Y, Suzuki J. Oxidative stress and myocarditis. *Curr Pharm Des.* 2016;22(4):450–71.
- Meloche S, Pouyssegur J. The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. *Oncogene.* 2007;26(22):3227–39.
- Zou J, Lei T, Guo P, Yu J, Xu Q, Luo Y, et al. Mechanisms shaping the role of ERK1/2 in cellular senescence (Review). *Mol Med Rep.* 2019;19(2):759–70.
- Huo YY, Li G, Duan RF, Gou Q, Fu CL, Hu YC, et al. PTEN deletion leads to deregulation of antioxidants and increased oxidative damage in mouse embryonic fibroblasts. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(8):1578–91.
- Zhang Y, Park J, Han SJ, Yang SY, Yoon HJ, Park I, et al. Redox regulation of tumor suppressor PTEN in cell signaling. *Redox Biol.* 2020;34:101553.
- Lee SR, Yang KS, Kwon J, Lee C, Jeong W, Rhee SG. Reversible inactivation of the tumor suppressor PTEN by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Biol Chem.* 2002;277(23):20336–42.
- Xia L, Tan S, Zhou Y, Lin J, Wang H, Oyang L, et al. Role of the NFκB-signaling pathway in cancer. *Oncotargets Ther.* 2018;11:2063–73.
- Wang M, Kirk JS, Venkataraman S, Domann FE, Zhang HJ, Schafer FQ, et al. Manganese superoxide dismutase suppresses hypoxic induction of hypoxia-inducible factor-1α and vascular endothelial growth factor. *Oncogene.* 2005;24(55):8154–66.
- Matés JM, Sánchez-Jiménez FM. Role of reactive oxygen species in apoptosis: Implications for cancer therapy. *Int J Biochem Cell Biol.* 2000;32(2):157–70.
- Quintero-Fabián S, Arreola R, Becerril-Villanueva E, Torres-Romero JC, Arana-Argáez V, Lara-Riegos J, et al. Role of Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Cancer. *Front Oncol.* 2019;9:1–21.
- Tothova Z, Kollipara R, Huntly BJ, Lee BH, Castrillon DH, Cullen DE, et al. FoxOs Are Critical Mediators of Hematopoietic Stem Cell Resistance to Physiologic Oxidative Stress. *Cell.* 2007;128(2):325–39.



Катарина ИЛИЋ, студент пете године интегрисаних основних и мастер академских студија УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ-ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА  
katarinaig96.ilic@gmail.com

## СЦЕНАРИО ЕДУКАТИВНЕ РАДИОНИЦЕ: „ФОРМУЛЕ И НАЗИВИ СОЛИ“

**Тема часа:** Соли

**Разред:** Осми

**Тип часа:** Систематизација

**Циљ часа:**

Ученици састављају формуле соли примењујући знање о валенци метала и валенци киселинског остатка и пишу називе соли.

**Материјал потребан за час:**

Упутство за рад (Прилог 1).

Две кутије са картицама, у једној су картице са информацијама о катјону, а у другој картице са информацијама о анјону соли (Прилог 2).

**Ток часа:**

**КОРАК 1: Ученици слушају инструкцију наставника.**

Наставник објашњава циљ часа и на који начин ће ученици радити у оквиру едукативне радионице. Предвиђено време: 3 минута.

**КОРАК 2: Ученици формирају парове, добијају писано упутство за рад и извлаче картице са симболима и формулама јона соли.**

Ученици формирају парове према томе како седе у клупама (планиран је рад за 12 парова). Сваки пар ученика добија упутство за рад од наставника и извлачи по једну картицу из сваке кутије: један ученик из пара извлачи из кутије картицу са симболом катјона, а други ученик из друге кутије извлачи картицу са симболом или формулом анјона. Предвиђено време: 7 минута.

**КОРАК 3: Ученици пишу формуле и називе соли.**

Ученици читају упутство за рад, а затим према информацијама на картицама у пару се договарају о одговорима које треба да запишу у табелу у оквиру упутства (о наелектрисању катјона метала и валенци метала у соли, о наелектрисању анјона и валенци киселинског остатка).

**КОРАК 4: Извештавање.**

Када парови заврше рад, по један ученик из сваког пара у табели на табли, са истим колонама као у табели у упутству за рад, записује податке за једну од соли чију је формулу и назив пар саставио и објашњава рад. Остали ученици слушају и упоређују формуле које су они саставили са онима које су записане на табли. Предвиђено време: 15 минута.

## Прилог 1: Упутство за рад

### Упутство за рад

На једној картици коју сте извукли приказан је симбол позитивно наелектрисаног јона метала (катјона), а на другој картици симбол или формула негативно наелектрисаног јона киселинског остатка (анјона). Ваш задатак је да према информацијама са обе картице у једном реду у табели ниже напишете тражене податке, да саставите формулу соли и дате назив тој соли. Када попуните ред у табели, картице предајте пару који седи иза вас, а преузмите картице од пара испред вас. У новом реду унесите податке према преузетим картицама и саставите нову формулу соли и напишите њен назив. Наставите рад на исти начин тако да напишете 12 формула и назива соли.

Позитивно наелектрисани јон метала (катјон)	Негативно наелектрисани јон киселинског остатка (анјон)	Валенца метала	Валенца киселинског остатка	Формула соли	Назив соли

### Прилог 2: Картице са информацијама о катјону и анјону

Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ba <sup>2+</sup>	Be <sup>2+</sup>	F <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	Br <sup>-</sup>	I <sup>-</sup>
Li <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	S <sup>2-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Cu <sup>2+</sup>	Ni <sup>2+</sup>	Fe <sup>3+</sup>	Al <sup>3+</sup>	HSO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>

### ABSTRACT

#### SCENARIO OF THE EDUCATIONAL WORKSHOP: „FORMULAS AND NAMES OF SALTS“

Katarina ILIĆ, student of the integrated basic and graduate academic studies, University of Belgrade – Faculty of Chemistry

This paper presents the scenario of an educational workshop which comprises the systematization of knowledge about formulas and names of salts. The realization of the workshop is planned for the eighth grade primary school students.



## ВЕСТИ ИЗ СХД

### ИЗВЕШТАЈ О РАДУ СРПСКОГ ХЕМИЈСКОГ ДРУШТВА У 2020. ГОДИНИ

**Делатност** Српског хемијског друштва је и у прошлој години била организована кроз рад подружница, СХД-Хемијско друштво Војводине и многобројне секције.

**Годишња скупштина Друштва** која је требало да се одржи у марту 2020. године одложена је услед пандемије COVID-19. На Годишњој скупштини је требало да се изврши избор нових чланова свих органа управљања, па да би се обезбедио неометан рад Друштва одлучено је да се продужи мандат досадашњим органима управљања. Имајући у виду да се ситуација није знатно побољшала, као и да у 2021. години следи избор председника Друштва, како не би дошло до преклапања избора, 05. новембра 2020. године, на Технолошко-металуршком факултету у Београду одржана је Годишња скупштина на којој је изабран један потпредседник и два секретара Српског хемијског

друштва на мандатни период од две године. За потпредседника Друштва изабрана је др Мелина Калагасидис Крушић, редовни професор Технолошко-металуршког факултета у Београду. За секретаре Друштва изабране су др Маја Радетић, редовни професор Технолошко-металуршког факултета у Београду и др Јелена Трифковић, ванредни професор Хемијског факултета у Београду.

**Априлски дани просветних радника Србије**, 31. стручно усавршавање наставника хемије и 4. Конференција методике наставе хемије, требало је да се одрже 24. и 25. априла 2020. године на Хемијском факултету у Београду у организацији Српског хемијског друштва и Хемијског факултета, Универзитета у Београду. Скуп је отказан услед пандемије COVID-19, а информација о новом термину биће објављена након што се стекну услови за то.



**56. Републичко такмичење из хемије за ученике средњих школа**, у организацији Министарства просвете, науке и технолошког развоја и Српског хемијског друштва, отказано је услед пандемије COVID-19.

**56. Републичко такмичење из хемије за ученике основних школа**, у организацији Министарства просвете, науке и технолошког развоја и Српског хемијског друштва, отказано је услед пандемије COVID-19.

**Седма српска хемијска олимпијада ученика средњих школа** у организацији Српског хемијског друштва и Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, отказана је услед пандемије COVID-19.

**57. Саветовање Српског хемијског друштва** које је требало да се одржи 2. и 3. октобра 2020. године на Природно-математичком факултету у Крагујевцу одложено је за 2021. годину, а нови термин одржавања ће бити благовремено саопштен.

**Осма конференција младих хемичара Србије** која је требало да се одржи у организацији Српског хемијског друштва и Клуба младих хемичара Србије одложена је за 2021. годину, а нови термин одржавања ће бити благовремено саопштен.

**52. Међународна хемијска олимпијада** одржана је као on-line такмичење од 23. до 30. јула 2020. године. Организатор је била Турска, јер је Истанбул требало да буде домаћин Олимпијаде. Организатор је саставио задатке, обезбедио преко ZOOM платформе одржавање састанка жирија и жалби на оцењивање, и приредио завршну церемонију. Олимпијада ове године није имала практични део, него се састојала само од теоријског дела са девет задатака, за чије решавање је било предвиђено 5 сати. Наша екипа је тест радила у библиотеци Хемијског факултета Универзитета у Београду. На Олимпијади је учествовало 235 такмичара из 60 земаља. Сви наши ученици су освојили медаље – сребрне медаље Филип Колдић, ученик IV разреда Математичке гимназије из Београда, Жарко Ивковић, ученик IV разреда Гимназије „Светозар Марковић“ из Ниша и Јован Марковић, ученик III разреда Гимназије из Крушевца, а бронзану медаљу Василије Пантелић, ученик III разреда XIV београдске гимназије. По билансу медаља на овој олимпијади Србија је заузела 6. место у Европи, а 15. место на свету. Двонедељне припреме за олимпијаду су, у организацији Српског хемијског друштва, одржане на Природно-математичком факултету у Нишу под руководством др Ника Радуловића, редовног професора, и на Хемијском факултету Универзитета у Београду под руководством др Душана Сладића, редовног професора, који су били и ментори екипе на олимпијади. На припремама и у организацији такмичења су били ангажовани и Видак Раичевић са Природно-математичког факултета Универзитета у Новом саду и др Ирена Новаковић из Института за хемију, технологију и металургију Универзитета у Београду. Учесће на олимпијади и припреме екипе су финансирани Српско хемијско друштво, Иновациони центар Хемијског факултета и Хемијски факултет Универзитета у Београду.

У периоду од 31. августа до 04. септембра 2020. године одржан је **71. Годишњи састанак Међународног друштва електрохемичара (71<sup>st</sup> ISE AM – Belgrade Online)**, преко on-line платформе. На састанку су учествовали чланови Електрохемичке секције СХД као:

- чланови Организационог комитета – проф. др Јелена Бајат и др Александар Декански (ко-председни-

ци), проф. др Александар Бојић, др Невенка Елезовић и проф. др Ђенђи Ваштаг;

- организатори појединачних симпозијума у оквиру 71<sup>st</sup> ISE AM – проф. др Бранимир Гргур (S7 Electrochemical capacitors: beyond double-layer storage), др Владимир Панић (S12 Electrochemical Engineering for Environmentally Friendly Processing and Environmental Protection), проф. др Игор Пашти (S13 Electrochemistry in the digital age: model-supported process analysis and design), проф. др Гордана Ђирић-Марјановић (S17 Electroactive materials: polymers, inorganic solids, nanocomposites and hybrid materials), проф. др Јелена Бајат и др Александар Декански (S21: Education and transmission of knowledge from the past to the new generations of electrochemists);
- предавачи по позиву – проф. др Бранимир Гргур („Teaching the electrochemistry: between theory and practice“, key note lecture), др Владимир Панић („Structural Dependence of Capacitive Performances of Multi-Metal Oxides Composites of Ordered Support-Layer Microstructure“, invited lecture), проф. др Игор Пашти („How Theory Can Help Us with Engineering Graphene-Based Materials for Electrochemical Applications?“, invited lecture).
- учесници са постер презентацијама.

2020. година је била **„Година електрохемије“**. Електрохемијска секција СХД била је учесник пројекта „Упознај електрохемију“, финансираног од стране Центра за промоцију науке, који је у току 2020. године реализован кроз две активности:

- циклус научно популарних предавања „Упознај електрохемију“ у Задужбини Илије М. Коларца, током којег су предавања одржали проф. др Игор Пашти, Универзитет у Београду – Факултет за Физичку хемију („Шта је електрохемија?“, 06.03.2020), проф. др Бранимир Гргур, Универзитет у Београду – Технолошко-металуршки факултет („Електрохемијска енергија: садашњост и будућност мобилности“, 13.03.2020), проф. др Јелена Бајат, Универзитет у Београду – Технолошко-металуршки факултет („Зашто све кородира и како то успорити“, 02.10.2020), проф. др Милица Гвозденовић, Универзитет у Београду – Технолошко-металуршки факултет („Електрохемијски биосензори“, 09.10.2020).

- у периоду од 01.09. до 19.09.2020. године одржана је изложба „Упознај електрохемију кроз Београдску школу електрохемије“ у Галерији науке и технике САНУ, коју је путем видео поруке отворио лауреат Нобелове награде за хемију 2019, професор Мајкл Стенли Витингем.

**Свечана прослава 50 година Европског хемијског друштва (EuChemS)** одржана је 3. јула 2020. године преко on-line платформе. Прослави су присуствовале председница СХД проф. др Весна Мишковић-Станковић и председница Секције за аналитичку хемију СХД, тј. DAC-EuChemS-a, проф. др Славица Ражић, заједно са 200 учесника из целог света. Честитку председници EuChemS-a, г-ђи Pilar Goya, упутило је и Српско хемијско друштво. Годишњи састанак **Генералне скупштине Европског хемијског друштва (EuChemS)** је одржан 24. септембра 2020. године преко on-line платформе. У раду овог скупа је учествовала председница Српског хемијског друштва проф. др Весна Мишковић-Станковић, заједно

са председницима хемијских друштава других европских земаља.

**ISE Satellite Meeting, посвећен академицима Александру Деспићу и Драгућину Дражићу, Recent Trends in Electrochemistry of Deposition, Dissolution and Corrosion** који је требало да се одржи у Новом Саду од 25. до 28. августа 2020. иако у потпуности организован, отказан је.

**21<sup>st</sup> European Meeting on Environmental Chemistry** који је у организацији Српског хемијског друштва и Матице српске требало да се одржи у Новом Саду од 1. до 4. децембра 2020. одложен је за 2021. годину, а нови термин одржавања ће бити благовремено саопштен.

**2<sup>nd</sup> UNIFood International Conference – UNIFood2020** који је у организацији Српског хемијског друштва и Универзитета у Београду требало да се одржи у Београду од 25. до 26. септембра 2020. одложен је за 2021. годину, а нови термин одржавања ће бити благовремено саопштен.

Клуб младих хемичара

Управни одбор Клуба младих хемичара Србије (Јелена Миловановић, Живота Селаковић, Вук Филиповић) поднео је Извештај о раду у којем наглашавају да је, услед пандемије COVID-19 Клуб био принуђен да у највећој мери редукује своје активности. Петнаести годишњи састанак Европске мреже младих хемичара (15<sup>th</sup> Delegates' Assembly of the European Young Chemists' Network) одржан је у Ситгесу (Шпанија), у периоду од 26. до 29. јануара 2020. године. Представница Српског хемијског друштва и Клуба младих хемичара Србије била је чланица Јелена Лазић, која је уједно и чланица Управног одбора EYCN (2019-2021), као Благајник. Клуб је, у сагласност председнице СХД, одлучио да нова председница Клуба при EYCN буде Јелена Кесић, студент докторских студија на Природно-математичком факултету Универзитета у Новом Саду. Клуб је од 27. до 28. новембра 2020. учествовао на једанаестој Европској ноћи истраживача „Да наука проструји“ са поставком под насловом „Хемија око нас“. Експерименте су изводили чланови Клуба: Михајло Јаковски, Мила Лазовић и Марко Јовић. Због ограничења услед пандемије, експерименти су снимљени и on-line посетиоци фестивала могли су да их гледају путем посебног линка, а доступни су и на сајту YouTube, на линку: <https://www.youtube.com/watch?v=-hRcBJeZeIA>.

**Свечана скупштина** Српског хемијског друштва која је требало да се одржи у децембру 2020. године одложена је за 2021. годину услед пандемије COVID-19. Уместо тога, презентацијом у електронском облику Руководство СХД осврнуло се на рад Друштва у 2020. години, предстојеће манифестације у 2021. години, награде и признања СХД, као и на институције које су помогле рад Друштва. Презентација је постављена на сајт СХД у понедељак, 21. децембра 2020. године. Награде и признања ће бити уручене добитницима на Свечаној скупштини 2021. године. Тада ће бити одржана предавања добитника медаља СХД за 2019. и 2020. годину.

На презентацији су се наша и имена добитника овогодишњих награда и признања Друштва. Награђени студенти добијају двогодишње бесплатно чланство у Друштву, двогодишњу претплату на *Journal of the Serbian Chemical Society* и претплату на часопис *Хемијски ипреглед*. За 2020. годину носиоци Специјалног признања су:

Јовановић Дијана, Природно-математички факултет, Ниш – 9,65

Симоновић Наташа, Технолошки факултет, Лесковац – 9,80

Марјановић Јована, Природно-математички факултет, Крагујевац – 9,64

Рондић Маид, Природно-математички факултет, Крагујевац – 9,54

Костић Марија, Природно-математички факултет, Приштина/Косовска Митровица – 9,90

Никачевић Павле, Хемијски факултет, Београд – 9,94

Ђурковић Филип, Хемијски факултет, Београд – 9,83

Лујић Тамара, Хемијски факултет, Београд – 9,71

Живковић Филип, Хемијски факултет, Београд – 9,69

Гајић Јелена, Хемијски факултет, Београд – 9,66

Црноглавац Милица, Хемијски факултет, Београд – 9,63

Перић Милица, Хемијски факултет, Београд – 9,60

Златанова Милена, Хемијски факултет, Београд – 9,50

Илић Милица, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,70

Мунџић Мирјана, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,70

Живковић Ана, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,70

Аврамовић Катарина, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,69

Ђурић Јована, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,67

Ђукановић Нина, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,67

Радивојчевић Ивана, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,59

Поморишки Александра, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,55

Туцаковић Марина, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,55

Павловић Александра, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,54

Пилиповић Ивана, Природно-математички факултет, Нови Сад – 9,51

Бабић Тијана, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,94

Вујичић Љиљана, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,88

Поповић Милица, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,82

Аксић Драган, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,74

Михајловић Мирјана, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,63

Карделис Филип, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,63

Латишко Страхиња, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,61

Љубанић Бојан, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,61

Салаковић Бењамин, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,53

Бајић Тијана, Технолошки факултет, Нови Сад – 9,51

Стојановић Наталија, Технолошко-металуршки факултет, Београд – 9,96

Вукоичић Ана, Технолошко-металуршки факултет, Београд – 9,94

Рамах Павле, Технолошко-металуршки факултет, Београд – 9,84

Ковачевић Александар, Технолошко-металуршки факултет, Београд – 9,69

Манојловић Милица, Технолошко-металуршки факултет, Београд – 9,67

Глишовић Оливера, Технолошко-металуршки факултет, Београд – 9,63  
 Анђелковић Милорад, Факултет за физичку хемију, Београд – 9,89  
 Вићентић Теодора, Факултет за физичку хемију, Београд – 9,68  
 Јелић Марко, Факултет за физичку хемију, Београд – 9,65  
 Алексић Катарина, Факултет за физичку хемију, Београд – 9,59  
 Влаховић Јована, Факултет за физичку хемију, Београд – 9,59  
 Зрилић Соња, Факултет за физичку хемију, Београд – 9,59  
 Јеремиић Ивана, Факултет за физичку хемију, Београд – 9,54

Добитници Годишње награде СХД за 2020. годину, признања које носи и новчану награду су:

Селаковић Милош, Хемијски факултет, Београд – 10  
 Папић Радмила, Природно-математички факултет, Нови Сад – 10  
 Радновић Никола, Природно-математички факултет, Нови Сад – 10  
 Гавриловић Светозар, Технолошко-металуршки факултет, Београд – 10  
 Марковић Милица, Факултет за физичку хемију, Београд – 10  
 Јокић Николина, Факултет за физичку хемију, Београд – 10  
 Митов Денис, Природно-математички факултет, Ниш – 9,97  
 Финансијски део награда, за ову годину, за седморо најбољих студената обезбедили су Хемијски факултет Универзитета у Београду и Српско хемијско друштво.

За заслужне чланове СХД изабрани су др Живослав Тешић, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду, др Славко Ментус, редовни члан Српске академије наука и уметности и редовни професор у пензији Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду, и др Јелена Бајат, редовни професор Технолошко-металуршког факултета Универзитета у Београду.

За почасне чланове СХД изабрани су др Иван Јуранић, редовни професор у пензији Хемијског факултета Универзитета у Београду, и др Олгица Недић, научни саветник Института за примену нуклеарне енергије Универзитета у Београду.

У 2020. години СХД је доделило Захвалнице: Драгани Гојшина као знак признања за допринос у вођењу библиотеке Друштва и библиотечком уређивању и евидентирању часописа JSCS у међународном библиотечком UDC систему, Хемијском факултету Универзитета у Београду и Иновационом центру Хемијског факултета Универзитета у Београду као знак признања за подршку у реализацији такмичења „Међународна хемијска олимпијада“.

У 2020. години СХД је доделило Повхвалнице за постигнут успех на 52. Међународној хемијској олимпијади: Филипу Колцићу, Жарку Ивковићу и Јовану Марковићу за освојену сребрну медаљу, Василију Пантелићу за освојену бронзану медаљу.

Стручна и научна признања Друштва за допринос развоју хемијске мисли у нас уручена су:

др Милошу Милчићу - Медаља за изванредне резултате у настави, као израз признања за допринос настави хемије, реализацији стручног усавршавања наставника и такмичења ученика основних школа из хемије,

др Ненаду Јанковићу - Медаља за прегалаштво и успех у науци, као израз признања за допринос истраживању нових хетероцикличних фармакофора и њихових хибрида, др Влатки Вајс - Медаља за трајан и изванредан допринос науци, као израз признања за допринос развоју и истраживању у области органске хемије - изоловању и идентификацији секундарних метаболита из ендемских биљних врста и анализи прекурсора бојних отрова.

**РАД ПРЕДСЕДНИШТВА И УПРАВНОГ ОДБОРА СХД**  
 У току 2020. године одржана су два састанка **Председништва у пуном саставу** (електронским путем), два састанка **Управног одбора** (електронским путем), као и четири састанка **Председништва у ужем саставу** (руководство и пар чланова бившег руководства), на којима се расправљало о текућим активностима Друштва, разматрани су извештаји о одржаним манифестацијама и организацији предстојећих манифестација, извештавано је о сарадњи Друштва са Европском асоцијацијом за хемију и молекуларне науке (EuCheMS) и другим асоцијацијама хемичара, расправљало се о публикацијама Друштва, финансирању и раду секција и подружница.

#### Чланарина и претплата на публикације

Висина чланарина и претплате на публикације за 2020. годину била је следећа:

Чланарине	РСД
за запослене	2.500,00
за наставнике основних и средњих школа	1.400,00
за студенте основних и мастер студија и пензионере	1200,00
за иностранство	70 €
JSCS	
за чланове Друштва	3.500,00
за чланове студенте основних и мастер студија и пензионере	1.500,00
за институције	22.500,00
за чланове из иностранства	70 €
за институције из иностранства	210 €
XII	
за чланове Друштва-у оквиру чланарине	
за школе и остале институције	5.000,00
за институције из иностранства	70 €

#### РАД ПОДРУЖНИЦА СХД

Током 2020. године рад свих Подружница СХД био је у великој мери отежан услед увођења ванредног стања и превентивних мера условљених пандемијом COVID-19.

**Подружница КиМ:** Чланови подружнице за Косово и Метохију су поред рада са студентима Одсека за хемију, Природно-математичког факултета, Косовска Митровица, учествовали у писању и публикавању научних радова и саопштења, у циљу презентовања резултата које су студенти остварили у предходном периоду у сарадњи са својим менторима. У наредном периоду један од задатака биће повећање броја активних чланова СХД-а из редова студената. Уколико актуелна епидемиолошка ситуација

дозволи, ментори ће са својим студентима посетити лабораторије са којима чланови имају појединачну и институционалну сарадњу, као и организовати активно заједничко учешће на научним скуповима у земљи, у наредној години. Чланови Друштва су дали значајан допринос и ове године развоју научне мисли кроз учешће у Уређивачком одбору, као и активном публикавању научних радова у часопису *University Thought - Publication in Natural Sciences*, Природно-математичког факултета, Универзитета у Косовској Митровици.

**Подружница у Бору:** Током 2020. године Подружница је реализовала једно научно-стручно предавање за чланове подружнице, али и за остале заинтересоване колеге и студенте Техничког факултета у Бору. Доц. др Урош Стаменковић одржао је 03. децембра 2020. године on-line предавање на тему „Утицај краткорочног високотемпературног старења на механичке, физичке и топлотне особине алуминијумских легура из серије 6000” из области прерађивачке индустрије. Подружница је забележила благи пораст броја чланова СХД у односу на претходну годину. У циљу промоције науке међу младима и грађанством, чланови подружнице СХД Бор су и ове године активно учествовали у манифестацији Фестивал Науке „Тимочки научни торнадо ТНТ Бор 2020“, који је одржан 11. новембра 2020. године електронским путем. Чланови подружнице учествовали су и на изложби „Упознај електрохемију кроз Београдску школу електрохемије“ у Галерији науке и технике САНУ.

#### **РАД секција СХД**

Током 2020. године рад свих Секција СХД био је у великој мери отежан услед увођења ванредног стања и превентивних мера условљених пандемијом COVID-19. Секције Друштва су кроз свој рад, организовање предавања, трибина, учествовање на скуповима и конгресима који су се одржали углавном електронским путем, на успешан начин омогућиле размену информација међу својим члановима што је њихова основна улога.

#### **Секције Друштва**

**Електрохемијска секција.** У току 2020. године на on-line састанцима Секције одржана су два предавања. Предавања су одржали др Владимир Панић, научни саветник ИХТМ на тему „Структурна зависност кондензаторских својстава вишеккомпонентних метал-оксидних композита уређене микроструктуре типа носач-слој”, и др Бојана Радјковић, научни сарадник ИХТМ, на тему „Микроструктура, хрупавост и отпорност на корозију завареног споја аустенитног нерђајућег челика АИСИ 304Л”. Чланови електрохемијске секције СХД учествовали су у реализацији пројекта „Упознај електрохемију“ и у 71. Годишњем састанку Међународног друштва електрохемичара (71<sup>st</sup> ISE AM – Belgrade Online).

**Секција за хемију животне средине.** Активношћу чланова Секције, а пре свих проф. др Ивана Иванчев-Тумбас, на годишњем састанку EuChemS DCE одлучено је да организација конференције ICSE 2025 буде поверена СХД и да се одржи у Београду. Колегиница Ивана Иванчев-Тумбас је делегат СХД у EuChemS DCE. У фебруару 2020. године на Хемијском факултету Универзитета у Београду одржан је „Japan-Serbia Environmental Exchange” симпозијум. На овом симпозијуму одржано је шест предавања и постерска секција током које су студенти докторских студија презентovali своје радове. Скуп

су отворили: декан Хемијског факултета проф. др Иван Гржетић; амбасадор Јапана у Србији, господин Junichi Maruyama, ректор Универзитета у Београду проф. др Иванка Поповић, помоћник министра из Министарства заштите животне средине, господин Слободан Перовић, помоћник министра из Министарства за рударство и енергетику, господин Иван Јанковић и директор канцеларије ЈСА Balkan господин Jiro Takeichi. У оквиру реализације пројекта „Унапређење животне средине у Панчеву, Србији, кроз сарадњу између академије, градске управе, индустрије и грађана”, који реализују Хемијски факултет у Београду и Nyogo Environmental Advancement Association (НЕАА), одржано је 10 семинара и активности на реализацији овог пројекта се са успехом одвијају. Проф. др Владимир Бешкоски је у 2020. години именован за коуредника у новооснованом часопису Јапаског друштва за животну средину под називом „Environmental Monitoring and Contaminants Research”. Проф. др Весна Антић, редовни професор на Пољопривредном факултету, преузела је дужност подручног уредника у часопису *Journal of the Serbian Chemical Society* за област *Environmental Chemistry*. Координатор за промоцију секције, доцент др Константин Илијевић, организовао је у име Секције нови циклус предавања у Задужбини Илије М. Коларца на тему „Људски утицај на животну средину: прошлост, садашњост, будућност”. Предавања су одржали др Константин Илијевић, Слађана Савић, Слађана Ђурђић и др Гордана Гајица. У оквиру програма „Велико знање – загађена мање“ у сарадњи Универзитета у Београду – Хемијског факултета и Музеја науке и технике у Београду, у оквиру циклуса предавања „Живот под маскама“, одржано је само једно предавање „Дисање на угљ“, др Владимира Ђурђевића у Музеју науке и технике.

#### **Секција за хемију и технологију влакана и текстила.**

У току 2020. године на састанку Секције др Ана Крамар је одржала предавање на тему „Примена диелектричног баријерног пражњења у текстилној индустрији“. На састанку Секције је извршен избор председника и секретара Секције. Др Снежани Станковић, досадашњем председнику Секције, и др Дарки Марковић, досадашњем секретару Секције, продужен је мандат и у наредном изборном периоду.

**Секција за молекуларне науке о храни.** У току 2020. године на састанку Секције одржана су три предавања. Предавања су одржали доц. др Петар Ристивојевић, Универзитет у Београду - Хемијски факултет на тему „Процена квалитета коре корена белог дуда (*Morus alba* L.) применом НРТLC-биоаутографије-UPLC-MS2 профила у комбинацији са хемометријом”, др Весна Јовановић, виши научни сарадник Универзитета у Београду - Хемијског факултета која је представила H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Twinning пројекат FoodEnTwin: Report on activities on the project FoodEnTwin, и Миленко Тошић, директор иновација, VizLore Labs, Нови Сад, који је представио пројекат H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> PhasmaFood. На састанку Секције је извршен избор председника и секретара Секције, проф. Душанки Милојковић-Опсеница (Универзитет у Београду – Хемијски факултет), досадашњој председници Секције, и доц. Јелени Радосављевић (Универзитет у Београду – Хемијски факултет), досадашњем секретару Секције, продужен је мандат и у наредном изборном периоду. У оквиру Horizont 2020 пројекта под акронимом FoodEnTwin, чланови секције учествовали су у раду друге радионице на

тему "Експериментални животињски модели за примену у наукама о храни и заштити животне средине" организоване на Медицинском факултету у Бечу, као и друге практичне школе "Winter school of proteomics" одржане на Хемијском факултету Универзитета у Београду (школи је присуствовало 45 полазника, из 7 различитих земаља и са 12 различитих универзитета). Чланови Секције учествују у реализацији два PROMIS пројекта, три пројекта у оквиру позива Програма сарадње српске науке са дијаспором, као и два пројекта Proof-of-Concept. Проф. др Тања Ђирковић Величковић је руководилац два пројекта која су повезана са SARS-CoV-2 тематиком, а који су одобрени у току 2020. године: „Одржива производња у Србији серолошког ЕЛИСА теста на антитела према SARS-CoV-2 вирус“ - финансиран од стране UNDP (Програм за развој Уједињених нација) у сарадњи са Универзитетом у Београду - Институтом за примену нуклеарне енергије у пољопривреди, и „Development of the assays for detection of SARS CoV-2 virus capsid proteins in biological fluids of COVID19 patients - CAPSIDO“ – финансиран од стране Фонда за науку Републике Србије у оквиру Специјалног програма истраживања COVID-19.

**Наставна секција СХД.** У току 2020. године одржано је седам састанака Секције. Предавања су одржали: Милош Козић на тему „ Експеримент у настави хемије“, Јелена Димитријевић на тему „Корелација предмета комерцијално познавање робе и хемија у економској школи“, Наташа Диздаревић, Анита Стојчевски на тему „Настава хемије у гимназији“, Александра Ракићевић на тему „Настава хемије у средњој стручној школи“, Милош Козић на тему „Амбијентална настава“, мр Снежана Рајић, Љиљана Ристић на тему „Иновирани гимназијски програми“, Милош Козић на тему „Online настава хемије у основној и средњој школи“. За председника Секције је поново изабран Милош Козић. Чланови Наставне секције су похвалили залагање наставника хемије који су се несебично одавали позивима Завода за унапређење образовања и васпитања (ЗУОВ), као и Министарства просвете, науке и технолошког развоја (МПНТР) и снимили online РТС часове хемије за потребе наставе и учења, часове припремне наставе за завршни испит на крају основног образовања и васпитања, али и састављали задатке за различите провере путем Обрзовне платформе МПНТР.

#### **Српско хемијско друштво – Хемијско друштво Војводине, СХД-ХДВ**

СХД-ХДВ је успешно радило кроз своје Подружнице и Секције Друштва. Председник СХД-ХДВ, Сања Панић, је поднела Извештај о раду у прошлој години. Активности Српског хемијског друштва-Хемијског друштва Војводине у 2020. години су остварене кроз уобичајене организационе и стручне садржаје. Интернет сајт Друштва на адреси <http://hdv.org.rs/> је редовно ажуриран кроз обавештења о актуелним дешавањима у раду Секција друштва, као и другим активностима чланова Друштва.

На Департману за хемију, биохемију и заштиту животне средине Природно-математичког факултета у Новом Саду 14.03.2020. године одржано је међуокружно такмичење из хемије за ученике средњих школа. Такмичење је одржано два дана пре проглашења ванредног стања, тако да је ово уједно био и последњи одржани ниво такмичења. Координатор такмичења био је проф. др Јанош Чанади. У реализацији такмичења учествовали су и проф. др Ђенђи

Ваштаг, проф. др Сузана Јовановић Шанта, проф. др Љубица Грбовић, проф. др Даниела Шојић Меркулов, проф. др Борко Матијевић, доц. др Душица Родић, доц. др Сузана Апостолов, доц. др Ксенија Павловић, Душан Шкорић и Видак Раичевић. Као и сваке године, такмичење је имало теоријски и експериментални део. На такмичењу су учествовали ђаци из Гимназије "Јован Јовановић Змај" (Нови Сад), Гимназије "Исидора Секулић" (Нови Сад) и Гимназије "Бранко Радичевић" (Стара Пазова).

Ученици основних и средњих школа и наставници хемије и технологије у општини Врбас и непосредној околини су, као и у претходном периоду, и у току 2020. године били носиоци активности реализованих у оквиру СХД-ХДВ Подружница Врбас. Чланови Подружнице су учествовали на редовним састанцима, договорима и припремама око планираних и реализованих активности. Чланови Подружнице реализовали су радионице и интерактивна предавања („Изворска вода“, „Тврдоћа воде“, „Хидроелектране“, „Зелена пољопривреда“, „Беланчевине, угљени хидрати и масти у исхрани“, „16.10. Светски дан правилне исхране“, „Дани хемије“, „Дани технологије“, „Израда фармацеутских производа“, „Ја предузетник“, „Ветропаркови“), у чијем осмишљавању, организовању и реализовању су учествовале: др Тамара Премовић и Нада Орбовић. У циљу иницирања и учествовања у подизању квалитета педагошке праксе, подстицања и коришћења савремених медија у реализацији наставних садржаја и иницирања и подизања информатичке и предузетничке културе и писмености међу наставницима хемије и технологије, као и промоције и праћења развоја у области хемијско-технолошких дисциплина одржани су: интерактивна предавања, радионице и округли сто: „ИОП у настави хемије“, „ИОП у настави технологије“, „Иновативне методе у настави хемијско-технолошких дисциплина“, „Међупредметне и предузетничке компетенције“, „Интердисциплинарност у настави хемије и технологије“, „ИКТ у настави хемије и технологије“. У иницирању, креирању садржаја, организацији и реализацији ових активности учествовале су др Тамара Премовић и Нада Орбовић. У сарадњи председника Подружнице Врбас и ЈКП „Комуналац“ Врбас реализован је пројекат „Вода за пиће“, којим су обухваћени ученици из општине Врбас и непосредне близине. У сарадњи председника Подружнице Врбас и председника Управног одбора Друштва за обновљиве изворе енергије СТШ „Михајло Пупин“ из Куле, Марјане Иванов, организоване су и реализоване заједничке активности: посета Ветропарку у Кули, пројекат: „Соларна енергија“ и „Савремена технологија“, предавања: „Зелена енергетика“ и „Правилна исхрана“. У сарадњи председника Подружнице Врбас и МПНТР РС, реализоване су следеће активности: „Мала школа хемије“, „Мала школа технологије“, „Сензорна оцена“, „Храном до здравља“, „Ученичке задруге у систему образовања и васпитања“, „Невидљива микробиологија“, „Лабораторијске анализе“. Председник подружнице Врбас узео је активно учешће у Националним сусретима наставника и стручних сарадника, „Планирање подршке ученицима по повратку у школу“ и „Подршка развоју персонализованог учења ученика по повратку у школе“, насталим као резултат сарадње УНИЦЕФ-а у Србији и МПНТР РС, који су део Learning initiative из Женеви и Педагошког Универзитета у Цириху, као и Харвард Универзитета и Института из Париза. С обзиром на актуелне специфици-

чне епидемиолошке услове и околности, неке од планираних активности су биле реализоване у електронском облику и у виду е-сусрета, а све остале активности биле су спроведене у складу са прописаним мерама, поштујући безбедност учесника истих.

**Секција за аналитичку хемију СХД – Хемијског друштва Војводине** имала је следеће активности:

Проф. др Младен Франко, гостујући професор СЕЕРУСИИ network-а “Education of Modern Analytical and Bioanalytical Methods” са Универзитета у Новој Горици, Словенија, 19. фебруара 2020. године је одржао предавање под насловом “Novel Methods and Applications of Photothermal Techniques for Speciation Studies in Environmental Samples”.

Члан Секције, проф. др Милан Вранеш, је одржао предавање по позиву огранка Српске академије наука и уметности у Новом Саду под називом “Примена јонских течности треће генерације у фармацији и биотехнологији”, 26. фебруара 2020. године.

Члан Секције, проф. др Даниела Шојић Меркулов, је била члан научног одбора и председавајући секције на 26th International Symposium on Analytical and Environmental Problems (23-24. новембар 2020.), Сегедин, Мађарска.

Исто тако чланови Секције су активно учествовали на Међуокружном такмичењу из хемије за ученике средњих школа које је одржано 14. марта 2020. године.

Чланови **Секције за биохемију СХД – Хемијског друштва Војводине** су током 2020. године углавном базирали своје активности у оквиру научно-истраживачке и наставне делатности. Учествовали су у организовању међуокружног такмичења из хемије за ученике средњих школа. Активности повезаних са популаризацијом науке, као и презентовања резултата истраживања на научним скуповима ове године није било, јер таква дешавања нису била организована.

**Секција за материјале у оквиру Српског хемијског друштва – Хемијског друштва Војводине** је у периоду од октобра 2019. до новембра 2020. године организовала предавање из области карактеризације материјала, које је одржао Др Мирослав Цветинов са Академије Уметности, Универзитета у Новом Саду, под називом “Карактеризација меке материје методом дифракције X-зрака”.

У оквиру **Секције за катализу Српског хемијског друштва – Хемијског друштва Војводине** одржано је једно предавање доц. др Наташе Ђуришић-Младеновић са Технолошког факултета у Новом Саду под називом „Технологије коришћења биомасе”. Циљ предавања је био пренос знања стечених на тренингу **Biomass Utilization Technology** у организацији **Јапанске агенције за међународну сарадњу- ЈИСА** у оквиру Програма међународне сарадње Владе Јапана. Предавање је одржано у Плавој сали Технолошког факултета Нови Сад 12.03.2020. године. Због настале епидемиолошке ситуације, све даље активности су прекинуте.

Током 2020. године **JOURNAL OF THE SERBIAN CHEMICAL SOCIETY** су уређивали главни и одговорни уредник Бранислав Николић и заменик уредника Душан Сладић. Часопис је редовно излазио и издато је 12 свезака са 121 радом, 552 аутора, на 1673 страна. Сви прихваћени радови (са DOI бројевима) постављени су на Home Page часописа у форми у којој су прихваћени (пре потпуне обраде за штампање). Ранг на листи часописа индексираних

на SCI листи у области мултидисциплинарне хемије, у 2019. години, је 138/177, импакт фактор 1,097. Петогодишњи импакт фактор у 2019. години (према укупном броју цитата током 5 година) је 1,023; ранг је 135/177.

Одштампано	2019.	2020.	
		број	% према 2019
Свезака	12	12	100
Радова	118	121	102
Страна	1485	1673	127
Аутора	519	552	106
Иностраних аутора	241*	284	118*
Пристигли радови	223	205	92
Штампано	79	30	
Прихваћено за штампу	105	47	
Одбијено	89	88	

\*Иностранци аутори: око 52% од укупног броја аутора.

У оквиру 61. годишта (које је издавано током 2020. године) редакција **Хемијског прегледа** је задржала досадашњу уредничку праксу публикавања прегледних и информативно-стручних радова. У оквиру 61. годишта издато је шест бројева на укупно 148 страна. Публиковано је укупно 15 чланака из различитих области хемије. У броју 1, у рубрици *Прича са корица*, одштампана је **биографија Миленка Б. ЂЕЛАПА** поводом 100 година од **његовог рођења** (1920-2004).

#### ПРЕГЛЕД ПРИХОДА И РАСХОДА У 2020. ГОДИНИ

Врста прихода	Удео у приходима (%)
Донаторства и спонзорства	39,10
Министарство просвете, науке и технолошког развоја	20,31
Котизације	4,09
Претплате на часописе	2,74
Чланарине	31,33
Приходи од услуга на тржишту, камате и позитивне курсне разлике	2,43
Врста расхода	Удео у расходима (%)
Трошкови издавања часописа	16,43
Зараде запослених и рад преко омладинске задруге	29,24
Поштански трошкови, трошкови телефона и сл.	3,16
Ауторски хонорари	32,60
Службена путовања	0,94
Чланарине	3,04
Остали трошкови (превоз запослених, канцеларијски и други материјал, услуге комуникација, књиговодствене услуге, такси и други трошкови превоза, таксе, банкарске услуге, трошкови репрезентације и сл.	14,59

Секретари СХД

Др **Маја Радетић**, ред. проф.

Др **Јелена Трифковић**, в. проф.