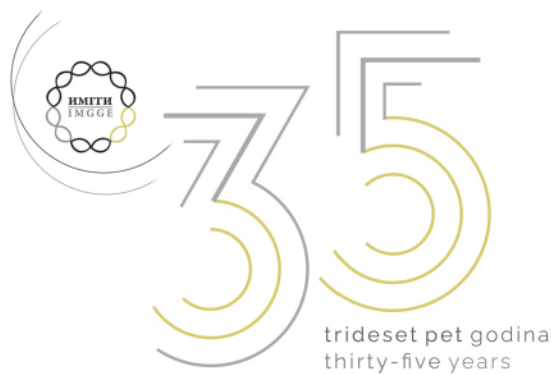


Broj 1 • septembar 2021. N° 1 • September 2021.



Trendovi u **molekularnoj biologiji**  
Trends in **Molecular Biology**



Beograd • Belgrade • 2021.  
IMGGI • IMGGE

# Sadržaj • Content

Personalizovana medicina i COVID-19: značaj genomskog profilisanja pacijenata i bioinformatike <b>Branka Zukić, Biljana Stanković, Nikola Kotur</b>	6	Personalized medicine and COVID-19: the importance of genomic host profiling and bioinformatics
Izotermalna amplifikacija posredovana petljom (LAMP) kao metoda za terensku detekciju SARS-CoV-2 virusa <b>Mila Djisalov, Teodora Knežić, Ljiljana Janjušević, Željko D. Popović, Petar Kosijer, Ivana Gadjanski</b>	21	Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) as a point-of-care SARS-CoV-2 detection method
CRISPR-Cas9 tehnologija: od osnovnih istraživanja do kliničke prakse <b>Marko Panić</b>	33	CRISPR-Cas9 technology: from basic research to clinical application
Primena CRISPR/Cas9 tehnologije u otkrivanju novih molekularnih terapeutika <b>Anita Skakić, Maja Stojilković</b>	42	Application of CRISPR/Cas9 technology in the discovery of new molecular therapeutics
Nova paradigma u dijagnostici retkih bolesti <b>Milica Keckarević Marković, Miljana Kecmanović, Dušan Keckarević</b>	54	Diagnostics of rare diseases: New paradigm
Genetička i epigenetička karakterizacija varijantnih <i>DMPK</i> ekspanzija kao modifikatora fenotipa miotonične distrofije tipa 1 <b>Jovan Pešović, Stojan Perić, Lana Radenković, Vidosava Rakočević-Stojanović, Dušanka Savić-Pavićević</b>	60	Genetic and epigenetic characterization of variant <i>DMPK</i> expansions as a modifier of phenotype in myotonic dystrophy type 1
Molekularna osnova primarne cilijarne diskinezije <b>Marina Anđelković</b>	71	Molecular basis of primary ciliary dyskinesia
Molekularna osnova monogenetskog dijabetesa <b>Jovana Komazec, Milena Ugrin</b>	84	The Molecular Basis of Monogenic Diabetes
Diferencijalna dijagnoza eozinofilnog infiltrata u sluznici jednjaka primenom molekularno-bioloških metoda <b>Nina Ristić, Tijana Išić Denčić, Radmila Janković</b>	96	Differential diagnosis of eosinophilic infiltrate in esophageal mucosa by applying molecular biology methods
Molekularni markeri u sistemskoj sklerozii: geni kandidati i terapijski modaliteti <b>Vesna Spasovski, Miša Vreća</b>	107	Molecular markers in systemic sclerosis: candidate genes and therapeutic modalities
Duga nekodirajuća RNK GAS5 kao novi biomarker u onkologiji <b>Vladimir Gašić, Nataša Tošić</b>	113	Long noncoding RNA GAS5 as a new biomarker in oncology
Prediktivna i prognostička uloga gena p16INK4a, p14ARF i KRAS u karcinomu rektuma čoveka <b>Bojana Kožik, Milena Krajnović, Nikola Kokanov</b>	123	Predictive and prognostic role of p16INK4a, p14ARF and KRAS genes in human rectal carcinoma
Savremena molekularno-biološka ispitivanja prognostičkih faktora papilarnog tiroidnog karcinoma i mogućnost njihove primene u kliničkoj praksi <b>Ilona Đorić, Jelena Janković Miljuš, Sonja Šelemetjev</b>	133	Contemporary molecular-biological investigations of papillary thyroid carcinoma prognostic factors and their potential for application in clinical practice
Nekodirajuće RNK kao perspektiva u dijagnostici i lečenju kardiovaskularnih bolesti <b>Ljiljana Rakićević</b>	146	Non-coding RNAs as a prospect in diagnostics and treatment of cardiovascular diseases
Biološko delovanje polifenola nara na komponente metaboličkog sindroma: implikacije na oksidativni stres <b>Milica Kojadinović i Aleksandra Arsić</b>	152	Biological effect of pomegranate polyphenols on the components of metabolic syndrome: implications on oxidative stress
Biogeni utišavači virulencije vrste <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <b>Milka Malešević, Branko Jovčić</b>	166	Biogenic silencers of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> virulence
Silicijum kao antistres element za biljke izložene toksičnim koncentracijama bakra <b>Dragana Bosnić, Dragana Nikolić, Jelena Samardžić</b>	180	Silicon as an anti-stress element for plants exposed to toxic copper

## **PREDGOVOR**

Molekularna biologija doživljava svoj procvat u XXI veku. Od naučne discipline koja je početkom 1930-ih bila u povojima, i koja je nastojala da objedini genetiku, biohemiju i biofiziku kako bi rasvetlila tajne života, izrasla je u nauku čija su postignuća doprinela velikom napretku u medicini, veterini, poljoprivredi i farmaciji. Uz informaciono komunikacione tehnologije, molekularna biologija je najperspektivnija oblast istraživanja, od koje se očekuje da značajno doprinese boljitku života ljudi u budućnosti.

U Srbiji je molekularna biologija prepoznata relativno rano, pre nego na mnogim drugim meridijanima. Već u školskoj 1972/73. se na Biološkom fakultetu u Beogradu (tada Prirodno-matematički fakultet) osniva smer- molekularna biologija i fiziologija. U našoj zemlji se tako edukuju generacije molekularnih biologa već pola veka. I veliki naučni instituti u Srbiji osnivaju laboratorije u kojima istraživanja prate, a ponekad i predvode, svetske trendove u molekularnoj biologiji. Jedna od tih naučnih institucija je Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo (IMGGI), osnovan 1986. godine u Beogradu. Već 35 godina naučnici iz IMGGI stavljaju najmodernije teme iz molekularne biologije u fokus svojih istraživanja.

Ovaj Tematski zbornik ima za cilj da prikaže aktuelne teme i postignuća iz oblasti molekularne biologije u prethodnoj, 2020. godini i da svedoči o tome kako su naučnici u Srbiji učestvovali u tim svetskim trendovima. Poglavlja su rezultat doktorskih teza mladih molekularnih biologa ali i prikaz aktuelnih istraživanja u kojima je istaknut doprinos naših naučnika. Od godine 2020. se očekivao veliki napredak u mnogim disciplinama zahvaljujući novim saznanjima iz molekularne biologije. Početak godine je doneo pandemiju KOVID-19 bolesti, koja je imala sve karakteristike epidemija iz ranijih vekova. Bili smo na pragu velikog razočaranja. A onda je molekularna biologija upotrebila sve svoje kapacitete, tako što je omogućila karakterizaciju virusa, uzročnika bolesti, za izuzetno kratko vreme. Iz tog razloga metode za detekciju virusa su bile razvijene u rekordnom roku, te je brza i efikasna dijagnostika postala dostupna lekarima. A potom su se pojavile vakcine, rezultat modernih metoda genetičkog inženjerstva. I tako je 2020. godina ipak bila jedinstvena u istoriji, jer je odgovor na epidemiju bio brz i efikasan, zahvaljujući, u velikoj meri, molekularnoj biologiji. Iste godine, Nobelova nagrada za hemiju je dodeljena metodi koja efikasno i tačno edituje humani genom. Vrata medicine budućnosti su se širom otvorila.

Ova sveska bi trebalo da bude prva u nizu godišnjih tematskih zbornika posvećenih aktuelnim temama iz molekularne biologije. Svesni smo kako će ovi rezultati izgledati za deceniju ili dve. Ali, ovo su „znakovi pored puta“ koje je naše vreme ostavilo, osvetljavajući put kojim se ide napred. Mi smo zadivljeni napretkom naše nauke, kad pogledamo u prošlost, ali smo i svesni koji su njeni dometi u odnosu na ono čemu nauka stremi. Radujemo se budućim sveskama i verujemo da će one otvarati nove perspektive i trasirati put napretka.

Nadamo se da će ovaj Tematski zbornik naći put do mladih ljudi, da će ih inspirisati da se opredele za naučni rad, posebno za molekularnu biologiju. Verujemo da će buduće generacije uvideti da naučni rad i u ovoj zemlji može dati doprinos svetskoj nauci a pri tome i dovesti do poboljšanja života ljudi u našoj zemlji. Od svih koji su učestvovali u stvaranju ovog svedočenja o našem vremenu, poruka za vas koji dolazite je:

„Hoćemo li na molekularnu?!“

**Sonja Pavlović**

## IZ RECENZIJA TEMATSKOG ZBORNIKA

### Trendovi u molekularnoj biologiji

Tematski zbornik *Trendovi u molekularnoj biologiji* oslikava trenutno stanje i fokus istraživanja u molekularnoj biologiji u Srbiji. Izabrane tematske oblasti i reprezentativni radovi jasno govore o mogućnostima i dometima ove naučne oblasti i spremnosti istraživača u Srbiji da prate trendove i savremene naučne pristupe.

Osim trenutno aktuelnog COVID-19, molekularna biologija je unapredila i obogatila istraživanja u medicini kroz oblast biomedicine. Težište ovog Tematskog zbornika je na rezultatima istraživanja molekularne osnove kompleksnih i retkih bolesti. Proučavanje prokariota dovelo je do mnogih fundamentalnih i revolucionarnih otkrića u molekularnoj biologiji, koja su otvorila put ka biotehnološkoj primeni. Jedno od takvih otkrića je i CRISPR/Cas9 tehnologija za editovanje genoma. Veoma važna oblast istraživanja je i potraga za inovativnim načinima kontrole infekcija izazvanih bakterijama koje su rezistentne na konvencionalne antibiotike. O ovim temama se takođe govori u Tematskom zborniku. Istraživanja u molekularnoj biologiji biljaka ne samo da su proširila znanja o ovim organizmima, već su otvorila put ka primeni savremenih metoda za poboljšanje osobina biljaka i povećanje prinosa. U tom smislu je veoma zanimljiv i ilustrativan rad koji je prikazan u ovom Zborniku.

Tematski zbornik *Trendovi u molekularnoj biologiji* jasno je ukazao na naučni i širi društveni značaj istraživanja u molekularnoj biologiji. Ovim prvim brojem nagoveštava se da će Zbornik ne samo pratiti i dokumentovati najznačajnija dostignuća u molekularnoj biologiji, već da će biti podstrek i inspiracija istraživačima u Srbiji.

#### **Prof. Svetlana Radović, redovni profesor Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu**

Tematski zbornik „Trendovi u molekularnoj biologiji“ je sačinjen od 17 poglavlja u kojima su predstavljeni naučni rezultati iz oblasti molekularne biologije koje su ostvarili naučnici iz Srbije. Veliki broj poglavlja iz Zbornika je posvećen istraživanjima iz oblasti biomedicine. Doprinos koji je molekularna biologija dala modernoj medicini je izuzetno veliki. Danas su u kliničkoj praksi mnogobrojni dijagnostički, prognostički i terapijskih molekularni markeri. Posebno je značajno što je medicina u Srbiji pratila svetske trendove, i to zahvaljujući i velikim naporima molekularnih biologa u našoj zemlji.

Najbolji primer postignuća molekularne biomedicine je odgovor ove nauke na pandemiju KOVID-19. Dijagnostika je omogućena uzuzetno brzo jer je molekularna biologija bila spremna za ovaj zadatak. Ipak je razvoj vakcina u fascinantnom roku najveće postignuće ove nauke. Molekularna biologija je pokazala svoju snagu u pravom trenutku i postala najznačajnija nauka u kriznim momentima za čovečanstvo, kako u svetu, tako i u našoj zemlji.

Sigurno je da će ovako koncipiran Tematski zbornik imati budućnost, jer je napredak medicine nemoguće zamisliti bez novih dostignuća molekularne biologije.

#### **Prof. dr Vesna Škodrić-Trifunović, redovni profesor Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu**

Ovaj Tematski zbornik kroz četiri celine daje pregled najznačajnijih ostvarenja u molekularnoj biologiji u svetu, a kojima se bave i istraživači u Srbiji. U okviru 17 preglednih radova prikazani su različiti rezultati - od onih koji su obeležili prethodnu godinu (posvećeni COVID-19 i CRISPR/Cas9 tehnologiji), preko novih dostignuća u biomedicini (retkih i kompleksnih bolesti), do molekularno bioloških istraživanja prokariota i biljaka.

Značaj ovog Zbornika je višestruk, ogleda se ne samo u činjenici da su najrelevantnija saznanja iz navedenih oblasti objedinjena i postala dostupna široj javnosti na maternjem jeziku, već i zbog toga što su radove napisali istraživači iz različitih naučnih instituta (6), fakulteta (3) i klinika (2) iz Srbije, u kojima se ta istraživanja aktivno sprovode. Naime, saznanja o SARS-CoV-2 koronavirusu, uzročniku nove bolesti COVID-19, se kontinuirano uvećavaju i veoma je važno što i naučnici iz naše zemlje daju doprinos u razumevanju ove pandemije. Isto se odnosi i na najnovije tehnologije za manipulaciju molekula DNK, koje su dovele do revolucionarnih pomaka u biomedicinskim naukama. Stoga, prikazana istraživanja molekularne osnove različitih bolesti najsavremenijim metodološkim pristupima, primena dobijenih rezultata u dijagnozi, preciznom predviđanju progresije bolesti i lečenju, kao i razvoju novih molekularnih terapeutika, daju realnu osnovu očekivanjima da će personalizovana medicina uskoro postati široko dostupna.

#### **Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu**

## Biološko delovanje polifenola nara na komponente metaboličkog sindroma: implikacije na oksidativni stres

Milica Kojadinović, Aleksandra Arsić

Institut za medicinska istraživanja, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerzitet u Beogradu

Kontakt: milica.kojadinovic.imr@gmail.com

### Apstrakt

Nar (*Punica granatum*, L) je jedan od najstarijih jestivih plodova koji se koristi u prevenciji i lečenju od davnina. Različiti delovi biljke, kao što su plod, seme, kora i lišće, sadrže bioaktivne sastojke za koje se navodi da poseduju lekovita i terapeutska svojstva. Među mnogobrojnim bioaktivnim komponentama u naru, polifenoli predstavljaju najvažniju grupu molekula sa pozitivnim efektom na zdravlje. Hipoglikemijski, hipolipemijski, hipotenzivni i anti-oksidativni efekat polifenola nara potvrđen je u brojnim studijama. Ovaj pregledni rad ima za cilj da predstavi najnovija istraživanja o strukturi i biološkoj aktivnosti komponenta nara i njihovom potencijalnom korisnom efektu u terapiji bolesti povezanih sa metaboličkim sindromom.

**Cljučne reči:** polifenoli nara, metabolički sindrom, dijabetes melitus 2, lipidi, oksidativni stres

## Biological effect of pomegranate polyphenols on the components of metabolic syndrome: implications on oxidative stress

Milica Kojadinovic and Aleksandra Arsic

Institute for Medical Research, National Institute of Republic of Serbia, University of Belgrade

Correspondence: milica.kojadinovic.imr@gmail.com

### Abstract

Pomegranate (*Punica granatum*, L) is one of the oldest edible fruits used in prevention and treatment. Various parts of the plant, such as fruit, seeds, bark, and leaves, contain bioactive ingredients that possess medicinal and therapeutic properties. Among the many bioactive components in pomegranate, polyphenols are the most important group of molecules with a positive effect on health. The hypoglycemic, hypolipidemic, hypotensive, and anti-oxidative effects of pomegranate polyphenols have been confirmed in numerous studies. The aim of this review is to present the latest research on the structure and activity of bioactive components of pomegranate and their potential beneficial effect in the treatment of diseases related to metabolic syndrome.

**Keywords:** pomegranate polyphenols, metabolic syndrome, diabetes melitus 2, lipids, oxidative stress

## UVOD

Nar (*Punica granatum* L.), čije je ime izvedeno od latinske reči *pomum* „jabuka“ i *granatum* „seme“ je jestivo voće koje se gaji u mnogim zemljama i konzumira širom sveta. Najverovatnije vodi poreklo iz Irana i Avganistana, mada se danas gaji u Africi, na jugu Kavkaza, u Južnoj i Centralnoj Aziji, Severnoj i Južnoj Americi, u Jermeniji i u Mediteranskoj regiji [1]. To je dekorativno i dugovečno drvo koje živi više od 200 godina. Plod čini okrugla bobica sa gustom crvenkastom ljuskom. Unutrašnji deo ljuske su bele tanke ćelije mezokarpa koji obrazuje komore koje sadrže jestive arilice sa semenom. Arilice su tamno crvene ili ljubičaste boje, zbog visokog sadržaja polifenola, uglavnom antocijanina [2]. Ova velika količina polifenola čini nar snažnim i jedinstvenim antioksidansom, čija je antioksidativna aktivnost veća i od vitamina E, A ili S [3]. Šta više, sok od nara pokazuje najveći antioksidativni kapacitet među ostalim često konzumiranim pićima koja su bogata polifenolima, kao što su zeleni čaj, crveno vino, sok od pomorandže, grejpfruta, grožđa ili brusnice [4,5]. Sadržaj aktivnih fitokemikalija u naru zavisi od sorte, geografskog regiona, zrelosti i metoda obrade [6]. Viši nivo polifenola primećen je i u soku i u kori plodova nara koji su uzgajani u područjima sa pustinjском klimom, u poređenju sa onima u voću uzgajanog u Mediteranskoj oblasti [7].

Zbog visokog sadržaja polifenolnih komponenti, nar je prepoznat kao jedna od namirnica čiji antioksidanti imaju brojne pozitivne efekte na zdravlje ljudi. Brojne *in vivo* i *in vitro* studije pokazale su da ekstrakti iz različitih delova biljke kao što su kora, cvet, seme, ili sok od nara mogu da utiču na metabolizam lipida i ugljenih hidrata u mnogim patološkim stanjima kakva su hiperlipidemije, dijabetes melitus tip 2 (DMT2), gojaznost. Metabolički sindrom (MetS) kao skup nekoliko metaboličkih poremećaja, koji uključuju visok nivo glukoze, centralnu gojaznost, dislipidemiju i hipertenziju [8], predstavlja široko rasprostranjenu hroničnu nezaraznu bolest u humanoј populaciji. Otpornost na insulin i abdominalna gojaznost prepoznati su kao glavni uzročni faktori MetS-a. Osim toga, MetS se odlikuje povećanim oksidativnim stresom i hroničnom inflamacijom i zbog toga se smatra jednim od glavnih faktora rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti (KVB) [9]. Pored hipoglikemijske i hipolipemijske terapije, lečenje osoba sa MetS uključuje i promene u načinu života, dijetetsku intervenciju i fizičku aktivnost. Poslednjih decenija mnoge biljke i njihovi ekstrakti predmet su istraživanja kod hroničnih nezaraznih bolesti povezanih sa MetS kao terapijske opcije sa malim rizikom od pojave neželjenih efekata [9,10]. Među njima su i biljke bogate polifenolima koje su prepoznate kao najperspektivniji antiaterogeni i kardioprotektivni biljni lekovi [10,11].

U ovom radu ćemo se fokusirati na pregled najnovijih istraživanja o strukturi i biološkoj aktivnosti bioaktivnih komponenta nara i njihovom potencijalnom korisnom efektu u terapiji bolesti povezanih sa MetS.

## AKTIVNE KOMPONENTE NARA

Nar (*Punica granatum*, L.), za koga se kaže da je rastao u rajskom vrtu, dugo se koristi u narodnoj medicini, posebno u zemljama Istočne i Južne Evrope. Nar se konzumira kako svež, tako i u formi sokova, džemova, vina [12,13], i tako omogućava unos velike količine polifenola. Uloga polifenola u prirodi je višestruka. Sa jedne strane kao sekundarni metaboliti oni štite biljku od oksidativnog stresa i ultraljubičastog zračenja, a sa druge strane redovno konzumiranje polifenola usko je povezano sa smanjenjem rizika od pojave mnogih hroničnih bolesti [14].

Za strukturu polifenola karakteristično je da sadrže jedan ili više aromatičnih prstenova za koje su vezane jedna ili više hidroksilnih grupa. U prirodi postoji više od 8000 fenolnih jedinjenja, koja se prema biološkoj funkciji, mestu nalazjenja i hemijskoj strukturi dele u klase. U zavisnosti od položaja i broja hidroksilnih grupa u fenolnim jedinjenjima zavisi ne samo njihova uloga u redoks reakcijama gde se ponašaju kao redukujući agensi i donori vodonika, već i njihova antioksidativna moć [14].

### Klase prirodnih polifenola

Postoji nekoliko različitih podela fenolnih jedinjenja na klase. Na osnovu strukturnih karakteristika polifenoli se dele na dve velike klase, flavonoide i ne-flavonoide u koje spadaju fenolne kiseline, fenolni amidi, halkoni, stilbeni i lignani [15].

Flavonoidi predstavljaju najveću klasu polifenola u okviru koje se nalazi najveći broj identifikovanih fenola do sada, čak preko 6000 različitih jedinjenja [16]. Većina njih sadrži dva aromatična prstena, povezana piranskim prstenom. Prema stepenu oksidacije piranskog prstena polifenoli mogu da se podele u 6 podklasa: flavonoli, flavanoli, izoflavoni, flavanoni, flavoni i antocijani [17] (Slika 1.). Flavonoidi koji se nalaze u prirodi najčešće se mogu naći u hrani u formi glikozida [18].

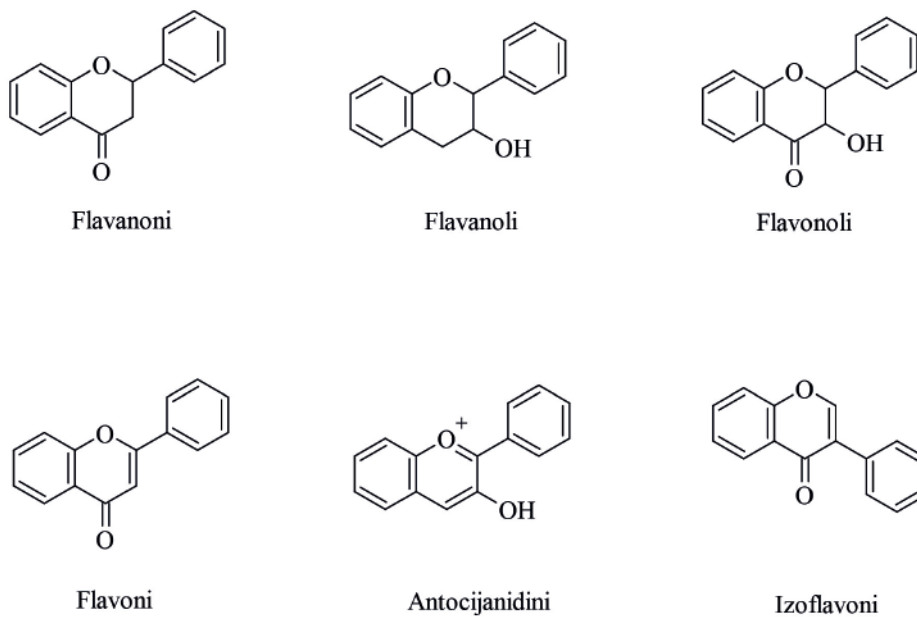
Ne-flavonoidi se najčešće dele na pet ili šest klasa ali se u odnosu na hemijsku strukturu, ulogu u očuvanju zdravlja i biološku funkciju njenih najvažnijih predstavnika, mogu podeliti na tri klase: fenolne kiseline, stilbeni i kurkuminoide [19,20].

Fenolne kiseline sadrže aromatični prsten za koji je vezana jedna ili više hidroksilnih grupa i jedna karboksilna grupa. Podeljene su u dve podklase koje čine derivati benzoinske kiseline i derivati cinaminske kiseline. Jedinjenja obe

podklase je teško naći u slobodnom obliku. Glavni predstavnik hidrobenzoinjskih kiselina je galna kiselina, a hidroksicinaminske kiseline kafeinska kiselina [21].

Stilbeni u svojoj strukturi sadrže dva aromatična prstena povezana dvostrukom vezom. Rezveratrol je jedno od najpoznatijih jedinjenja u klasi stilbena. Zbog malog procenta zastupljenosti u biljkama, ova klasa polifenola nije previše zastupljena u svakodnevnoj ishrani [22,23].

Kurkuminoidi u svojoj strukturi sadrže dva aromatična prstena vezana na krajeve  $\beta$ -diketona. Iako su prisutni u manjoj meri u hrani, imaju značajnu ulogu u očuvanju zdravlja.



Slika 1. Podela flavonoida na podklase

## Polifenoli nara

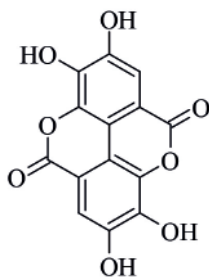
Najrasprostranjenija klasa polifenolnih jedinjenja u naru su hidrolizabilni tanini, posebno elagitanini i galotanini, koji su prisutni u svim delovima biljke. Bioaktivnost nara je većim delom zasnovana na prisustvu ovih jedinjenja [24,25]. Glavni elagitanini su punikalgin i granatin. Punikalgin se sastoji od elaginske i galne kiseline i molekula glukoze. Elaginska kiselina (EK) je prisutna u svim delovima biljke, a u mezokarpu nara ima najviše EK i granatina B (Slika 2.).

Nakon konzumiranja nara, elagitanini se u crvenom traktu hidrolizuju do EK [26,27]. Bioraspoloživost EK pokazuje veliki stepen varijacije, koji zavisi od brojnih faktora: slabe rastvorljivosti slobodne EK u želucu, vrste elagitanina kao prekursora za EK i ograničene apsorpcije EK u crevima [28].

Elaginska kiselina se u crevima metaboliše od strane mikrobiote do urolitina A, izourolitina-A, urolitina B, urolitina C i urolitina D [29]. Katabolizam EK do urolitina zavisi od sastava mikrobiote pojedinca i u zavisnosti od smeše urolitina koja se dobije prilikom razgradnje, postoje različiti metabolički fenotipovi [30]. Ukoliko je krajnji metabolit A, onda govorimo o metaboličkom fenotipu A. Metabolički tip B, prisutan je ukoliko su zastupljeni urolitin A, izourolitin-A i urolitin B, dok su oni koje ne proizvode urolitine označeni kao metabolički fenotip 0 [30]. Interesantno je da je metabolički fenotip B prisutan u visokom procentu kod osoba sa hroničnim bolestima kakve su MetS ili kancer [30]. Pozitivni efekti na zdravlje koji se pripisuju urolitinima su brojni i raznovrsni, od antimalarijskog do uticaja na ekspresiju nekih gena [31].

U naru su osim elagitanina, u velikoj meri zastupljeni i antocijani. Međutim, antocijani nisu bioraspoloživi, odnosno nakon konzumiranja soka od nara ovi molekuli se ne detektuju u serumu ili urinu. Crvena boja nara upravo potiče od visokog sadržaja antocijana [32].

Nar sardži i niske koncentracije ispraljivih jedinjenja kao što su monoterpeni, aldehidi, estri i alkoholi [33,34]. Nekoliko organskih kiselina učestvuju u ukusu i kiselosti soka od nara. Tu spadaju limunska kiselina, malonska kiselina, oksalna kiselina, askorbinska kiselina, galna kiselina, kumarinska kiselina, hlorogena kiselina, kafeinska kiselina i ferulinska kiselina [6,35,36]. Masne kiseline i lignani su zastupljeni u zrnu nara. Ukupni lipidi čine 6-21.6 %, a u njima čak 90% nezasićenih masnih kiselina [37,38]. U semenkama nara prisutna je visoka koncentracija fitosterola kao što su  $\beta$ -sitosterol, kampesterol i stigmasterol [37].



Slika 2. Strukturna formula elaginske kiseline

## ANTIOKSIDATIVNI EFEKTI SOKA OD NARA

Svež sok od nara sadrži 85% vode, 10% ukupnih šećera, 1.5% pektina, askorbinsku kiselinu, i polifenolne komponente. Brojne studije su pokazale da sok od nara sadrži širok spektar jedinjenja sa jakim antioksidativnim kapacitetom. Antioksidativnom potencijalu soka od nara u najvećoj meri doprinose hidrosolubilni tanini, flavonoidi i fenolne kiseline. Antioksidativna aktivnost ovih jedinjenja manifestuje se na nekoliko načina: uklanjanjem ili neutralizacijom slobodnih radikala, heliranjem metala, uticajem na signalne puteve u ćeliji i modulacijom ekspresije gena [39,40]. Biljke sa većim sadržajem polifenola obično imaju veću sposobnost za uklanjanje slobodnih radikala, dok su u nekim slučajevima najviša antioksidativna svojstva pokazale biljke sa najvišim sadržajem terpena [41]. Osim toga, mnoga istraživanja su pokazala da jak potencijal soka od nara za uklanjanje

slobodnih radikala u suštini potiče od svih polifenola koji su prisutni u njemu i da je kao takav superiorniji od pojedinačnih polifenola iz soka [42].

Neutralizacija slobodnih radikala, u biološkim sistemima, pod dejstvom polifenola iz soka od nara podrazumeva doniranje protona od strane polifenola lipidnim peroksidima (LOO.) čime se prekida proces lipidne peroksidacije [43]. Osim protona, neki polifenoli kao što je punikalagin, mogu donirati elektron iz OH grupe koja je vezana za fenolni prsten, vodonik peroksidu (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i tako ga redukovati do vode, doprinoseći tako njegovom uklanjanju [44]. Osim toga, elektron može biti doniran i trovalentnom gvožđu Fe<sup>3+</sup> pri čemu nastaje Fe<sup>2+</sup>, a kapacitet soka od nara da redukuje Fe upravo je srazmeran broju hidroksilnih grupa u molekulu polifenola [44]. Ovako nastao Fe<sup>2+</sup> može biti dalje neutralisan od strane polifenola, budući da mnogi od njih imaju sposobnost da heliraju metalne jone. Naime, joni Fe<sup>2+</sup> su visoko reaktivni i mogu da pokrenu stvaranje hidroksil radikala u Fentonovoj reakciji [45]. Hidroksil radikal je veoma reaktivan i može da indukuje proces lipidne peroksidacije. Nekoliko studija je pokazalo da kvercetin i punikalgin iz soka od nara helira Fe<sup>2+</sup> i tako sprečavaju stvaranje slobodnih radikala [46, 44].

Različiti polifenoli efikasno inhibiraju aktivnost nekih ATP (*engl.* acid transporter protein) i NADPH (*engl.* nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) zavisnih enzima, vezujući se za aktivna mesta ovih enzima. Tako je potvrđeno da polifenoli iz soka od nara inhibiraju aktivnost ksantin oksidaze, koji generiše različite reaktivne vrste kiseonika [47]. Osim toga, flavonoidi poput katehina i nekih procijanidina interaguju sa NADPH-oksidazom što dovodi do smanjenja proizvodnje superoksid anjon radikala [43]. Neki autori su potvrdili da polifenoli mogu da moduliraju aktivnosti antioksidativnih enzima kao što su glutation peroksidaza (*engl.* glutathione peroxidase GPx), katalaza (*engl.* catalase CAT) i glutation S-transferaza [48], kao i da mogu da obnavljaju antioksidante i redukujuće agense, kakvi su vitamini E i C [43].

Kao odgovor na oksidativni stres, ćelije indukuju koordinisanu ekspresiju gena koja je uglavnom posredovana aktivacijom transkripcije NRF2 (*engl.* nuclear factor erythroid 2-related factor 2) koji se dalje vezuje za promotore gena koji kodiraju superoksid dizmutazu (*engl.* superoxide dismutase SOD), hemoksigenazu-1, kinin oksidoreduktazu-1 i  $\gamma$ -glutamil cistein sintazu [49,50]. Nekoliko studija je pokazalo da punikalgin, resveratrol i ekstrakti nara takođe aktiviraju NRF2 koji se translocira u jedro, gde posreduje u transkripciji ciljnih gena koji kodiraju antioksidativne enzime i tako povećavaju otpornost ćelije na oksidativni stres i učestvuju u antioksidativnoj odbrani organizma [51,52].

Osim toga, resveratrol aktivira AMPK (*engl.* AMP-activated protein kinase) preko *SIRT1* (*engl.* sirtuin 1) i pojačava biogenezu mitohondrija [53,54]. Primećeno je da resveratrol smanjuje ekspresiju iNOS (*engl.* inducible nitric oxide synthase) [55], smanjujući proizvodnju azot oksida (*engl.* nitric oxide NO), što dalje vodi smanjenju oksidativnog stresa.

Polifenoli mogu da utiču i na ekspresiju gena i signalne puteve koji su deo metabolizma lipida i ugljenih hidrata. Tako je pokazano da resveratrol povećava ekspresiju nekih gena koji su ključni za funkciju  $\beta$ -ćelija pankreasa, kao što su glukozni transporter 2 (*engl.* glucose transporter 2 GLUT2), mitohondrijski transkripcioni faktor A, fosfoinozolid-zavisna kinaza-1, glukokinaza i insulin 1 kroz regulaciju glavnog gena, *SIRT1*, i tako ublažava posledice kod dijabetičara [56].

## EFEKAT NARA NA KOMPONENTE METABOLIČKOG SINDROMA

Poslednjih decenija ispitivanje korisnih efekta soka od nara u brojnim metaboličkim poremećajima kakvi su hiperlipidemije, DMT2, gojaznost, ili hipertenzija, postaje predmet istraživanja mnogih naučnika. Skup ovakvih višestrukih kardiometaboličkih poremećaja koji obuhvata izmenjen metabolizam glukoze i insulina, centralnu gojaznost, dislipidemiju i hipertenziju, naziva se metabolički sindrom [57]. Prema kriterijumima NCEP ATP III (*engl.* National Cholesterol Education Program III), MetS se definiše kao pojedinačno prisustvo najmanje tri od pet navedenih faktora rizika:

- visok nivo glukoze ( $\geq 5.6$  mmol/l).
- abdominalna gojaznost (obim struka  $>102$  cm za muškarce i  $>88$  cm za žene)
- visok nivo triglicerida (*engl.* tryglicerides TG) ( $\geq 1.70$  mmol/l)



- nizak nivo HDL-holesterola (*engl.* high density lipoprotein) ( $<1.03$  mmol/l kod muškaraca ili  $<1.29$  mmol/l kod žena)
- visok krvni pritisak ( $\geq 130/85$  mm Hg kod poslednja dva merenja)

Metabolički sindrom povećava rizik od nastanka kardiovaskularnih bolesti i DMT2, i predstavlja kritično pretkliničko stanje kod koga je neophodno intervenisati. Osim medikamentne terapije, promene u načinu ishrane, upotreba biljnih preparata i proizvoda koji su bogati antioksidantima, predstavljaju preporuku za tretman ovog stanja. U narednim poglavljima ovog rada fokusiraćemo se na efekte koji polifenoli nara imaju na parametre MetS-a.

## EFEKAT NARA NA METABOLIZAM GLUKOZE

Dijabetes melitus je grupa metaboličkih oboljenja koje karakteriše hronična hiperglikemija koja je rezultat poremećenog lučenja insulina, delovanja insulina, ili i jednog i drugog. Prema podacima svetske zdravstvene organizacije iz 2020. godine više od 422000 ljudi boluje od ove bolesti, a 90% njih ima DMT2. Za razliku od dijabetesa tipa 1, u kojem ćelije pankreasa ne proizvode insulin, DMT2 karakteriše insulinska rezistencija, a ne nedostatak proizvodnje insulina. Poremećen nivo insulina kao anaboličkog hormona utiče i na metabolizam lipida i proteina.

Podaci iz literature su pokazali da različiti delovi biljke nara imaju hipoglikemijski efekat, kao i da pozitivno utiču na funkcije  $\beta$ -ćelija, lučenje insulina i značajno smanjuju aktivnost enzima  $\alpha$ -amilaze. Naime, *Amri* i saradnici [58] su pokazali da suplementacija sokom od nara, korom nara i listom nara u količini od 250 mg/kg sprečava pojavu hiperglikemije i hiperinsulinemije kod gojaznih pacova. Šta više, njihova istraživanja ukazuju da usled smanjenja apsorpcije ugljenih hidrata u crevnom traktu dolazi i do smanjenja telesne težine, sugerišući da dugotrajni tretman ekstraktom nara poboljšava toleranciju na glukozu, sprečava razvoj insulinske rezistencije, kao i da se smanjenjem aktivnosti  $\alpha$ -amilaze i lipaze smanjuje apsorpcija ugljenih hidrata i lipida. Osim toga, i u drugim animalnim i *in vitro* studijama pokazano je da ekstrakt nara inhibira aktivnosti  $\alpha$ -amilaze, što vodi smanjenju apsorpcije ugljenih hidrata u gastrointestinalnom traktu i do smanjenja nivoa glukoze u plazmi [59–61].

Međutim mali broj studija pokazao je isti efekat na humanoj populaciji. Naime u studiji *Parsayean* i saradnika [62] svakodnevno konzumiranje 200 ml soka od nara u trajanju od 6 nedelja dovelo je do statistički značajnog smanjenja nivoa glukoze kod pacijenata sa DMT2 (Tabela 1.). Sličan rezultat su dobili i *Aviram* i saradnici [63] u studiji sa pacijentima sa bolešću karotidnih arterija, koji su konzumirali 50 ml soka od nara u trajanju od godinu dana, ali ove promene nisu bile statistički značajne. Sa druge strane, neki autori su pokazali da sok od nara ne utiče na nivo glukoze ili čak povećava njen nivo u plazmi [64]. Tako se nivo glukoze nije značajno menjao kod žena sa MetS nakon konzumiranja 300 ml soka od nara u trajanju od 6 nedelja [65]. Značajno povećanje koncentracije glukoze pokazano je kod pacijenata sa koronarnim oboljenjem srca nakon konzumiranja 240 ml soka od nara u trajanju od 3 meseca [66]. Takođe, *Gonzales-Ortiz* i saradnici [67] su pokazali da je u studiji sa gojaznim osobama koje su konzumirale 120 ml soka od nara u trajanju od mesec dana došlo do značajnog povećanja koncentracije glukoze. Slične rezultate su dobili *Moazzen* i *Alizadeh* [68], u čijoj studiji je nakon konzumiranja 500 ml soka od nara u trajanju od jedne nedelje pokazano da se koncentracija glukoze značajno povećala kod osoba sa MetS.

Mogući mehanizam kojim polifenoli nara deluju na sniženje glukoze zasniva se na mogućnosti polifenola da stimulišu translokaciju SIRT1, IRS1 (*engl.* Insulin Receptor Substrate 1), PI3K (*engl.* Phosphoinositide 3-kinase), NRF1 (*engl.* Nuclear Respiratory Factor 1), GLUT-4 i FOXO1 (*engl.* Forkhead Box O1) na taj način pojačavajući osetljivost signala za insulin i mitohondrijsku biogenezu. Polifenoli takođe mogu da smanje fosforilaciju ppIRS-1 (*engl.* phosphorylated IRS1) (S307) i inhibiraju DPP-4, regulisanjem ppPI3K (*engl.* Phosphoinositide 3-kinase). DPP-4 je jedan od enzima u crevima koji su tokom varenja odgovorni za razgradnju skroba do glukoze, pa tako podižu nivo glukoze u cirkulaciji. Inhibicija ovog enzima suzbija postprandijalnu hiperglikemiju i povećanje nivoa ppPI3K poboljšava signalne mehanizme insulina, ublažavajući tako rezistenciju na insulin.

Osim uticaja na nivo glukoze i insulina, nekoliko studija je ispitivalo efekat suplementacije ekstraktima nara na nivo HbA1c (*engl.* Hemoglobin A1c) [66,69,70]. Ipak, *Huang* i saradnici [71] u preglednom radu i meta analizi pokazali su da se vrednost HbA1c ne menja značajno, nakon konzumiranja soka od nara u trajanju od 1 do 12 nedelja kako kod zdravih tako ni kod osoba sa MetS. Oni su sugerisali da sok od nara nema koristan efekat na metabolizam glukoze i nivo insulina kod ljudi.

## EFEKAT NARA NA GOJAZNOST I METABOLIZAM LIPIDA

Gojaznost kao deo metaboličkog poremećaja može se definisati kao hronična bolest sa više faktora kod koje se akumulira višak telesne masti i meri se indeksom telesne mase (BMI) pojedinca. Za odraslu osobu, prekomerna težina je BMI preko  $25 \text{ kg/m}^2$ , a gojaznost kada je BMI preko  $30 \text{ kg/m}^2$  [72]. Međutim, mnoga istraživanja ukazuju na to da je obim struka značajniji pokazatelj gojaznosti od BMI [73]. Polifenoli nara kao što su kamfor, fenolna jedinjenja, flavonoidi, galna kiselina, katehini mogu da smanje aktivnost lipoproteinske lipaze i tako vode ka smanjenju gojaznosti [74].

Nekoliko animalnih studija pokazalo je koristan efekat nara na smanjenje telesne težine. Tako su *Bounihi* i saradnici u studiji koja je trajala 18 nedelja pokazali da sok od nara utiče na smanjenje telesne težine i smanjenje apetita kod gojaznih pacova [75]. Takođe, rezultati studije *Adnyana* i saradnika [76], u kojoj su gojazni miševi konzumirali 50 i 100 mg/ml ekstrakta lišća nara mesec dana, pokazali su da dolazi do značajnog smanjenja telesne težine. Osim toga u *in vitro* studijama sa mezenhimskim matičnim ćelijama dobijenih iz masnog tkiva koje su bile izložene 10 µg/ml smeše punične, oleinske i linolne kiseline (*engl.* linoleic acid LA) pokazano je da ulje nara dovodi do inhibicije adipogeneze, smanjenja inflamacije, manje proizvodnje ATP i manjeg unosa glukoze [77].

Smanjenje količine masnog tkiva nakon mesec dana konzumiranja 120 ml soka od nara pokazano je u studiji sa gojaznim ljudima [67].

Takođe, *Haghighian* i saradnici su u studiji sa gojaznim ženama sa dislipidemijom koje su konzumirale 500 mg kore nara u trajanju od 8 nedelja pokazali da je došlo do smanjenja ukupnog holesterola, LDL-holesterola, TG, smanjenje sistolnog krvnog pritiska i CRP (*engl.* C-reactive protein) [78].

Promenjen metabolizam lipida koji podrazumeva povećan nivo holesterola i TG predstavlja glavni uzrok mnogih bolesti, uključujući gojaznost, bezalkoholnu masnu jetru, kardiovaskularne bolesti, insulinsku rezistenciju, hipertenziju, i aterosklerozu. S toga je efekat konzumiranja soka od nara na metabolizam lipida ispitivan u brojnim studijama. Tako je tretman polifenolima nara, kao što je galna kiselina, u trajanju od sedam nedelja smanjio nivo ukupnog holesterola, TG i LDL-holesterola kod gojaznih miševa [79]. Sa druge strane *Yamasaki* i saradnici [80] su u studiji sa uljem semenki nara kod miševa pokazali da koncentracija TG u serumu raste, dok su *Mc Farlin* i saradnici [81] utvrdili da dvomesečno konzumiranje ulja od semenki nara nema značajan efekat na TG i lipidni profil kod zečeva sa hiperholesterolemijom.

Brojne humane studije potvrdile su hipolipemijski efekat nara. Tako na primer u tri odvojene studije pokazano je da nakon 6 nedelja konzumiranja 200 ml soka od nara i 8 nedelja uzimanja 40 g koncentrata soka od nara, došlo do značajnog smanjenja LDL-holesterola i ukupnog holesterola kod pacijenata sa DMT2 koji su razvili hiperlipidemiju [62,82,83]. Takođe, u našoj nedavno objavljenoj studiji nivo LDL-holesterola značajno se smanjio nakon dve nedelje konzumiranja 300 ml soka od nara kod osoba sa dislipidemijom [84]. Sa druge strane nekoliko studija je pokazalo da konzumiranje soka od nara, dovodi do povećanja nivoa HDL-holesterola kod osoba sa DMT2 [85] kao i osoba sa bezalkoholnom masnom jetrom [86].

Osim toga u studiji *Rashidi* i saradnika [87] sa dijabetičarima koji su 3 meseca svakodnevno konzumirali 45 g koncentrovanog soka od nara autori su pokazali da on nema uticaja na lipidni profil kod ovih pacijenata. Takođe, *Sahebkar* i saradnici [88] u meta-analizi koja je uključila 12 studija, pokazuju da konzumiranje soka od nara ne utiče na lipidni profil, ni kod zdravih ispitanika, tako ni kod gojaznih, umereno gojaznih, osoba sa hiperlipidemijom, ali ni osoba sa hipertenzijom. Štaviše, neki autori su pokazali povećanje koncentracije TG nakon konzumiranja 500 ml soka od nara, u trajanju od 7 dana, kod osoba sa MetS [68].

Mehanizam kojim sok od nara deluje na koncentraciju lipida nije sasvim razjašnjen, ali se pretpostavlja da se odvija preko PPARs, koji su osnovni modulatori metabolizma lipida [89]. Naime, smatra se da se punična i galna kiselina iz nara vezuju za PPAR- $\alpha$  i time ga aktiviraju, koji onda aktivira ekspresiju gena koji su uključeni u metabolizam lipida [90]. Među genima koje reguliše PPAR nalaze se geni koji kodiraju: *APOA1* (*engl.* Apolipoprotein A1), *APOA2*, *APOA5*, enzime uključene u oksidaciju masnih kiselina (MK) (*ACO* (*engl.* acyl-CoA oxidase), *CPT-I* (*engl.* carnitine palmitoyl transferase-I), *CPT-II*), enzime potrebne za desaturaciju MK kao što su  $\Delta 6$  desaturaze (*engl.* acyl-CoA desaturase) i  $\Delta 9$  desaturaze (*engl.* stearoyl-CoA desaturase), gene koji su uključeni u metabolizam HDL-a i sintezu ketonskih tela [91]. Hipoholesterolemijski efekat nekih polifenola, posebno procijanidina koji imaju veliku molekulsku masu, zasnovan je na činjenici da takvi molekuli smanjuju resorpciju holesterola u crevima [92]. Takođe, nekoliko autora je ukazalo da smanjen nivo TG potiče od smanjene regulacije acetyl-CoA karboksilaze pri čemu kao posledica dolazi do sprečavanja akumulacije TG u jetri [93]. Disproporcija među rezultatima može poticati od različitog sadržaja nekih polifenola u različitim sortama nara, a u svakom slučaju zavisi i od zdravstvenog stanja i patologije ispitanika.

Osim što utiču na metabolizam lipida, polifenoli mogu da utiču i na metabolizam MK. Tako je pokazano da polifenoli aronije menjaju MK profil kod gojaznih žena [94]. Međutim, efekat polifenola nara na metabolizam MK ispitivan je u manjoj meri. Ranije studije su pokazale da neki polifenoli smanjuju aktivnost  $\Delta 6$  desaturaze jer modulišu nivo njene mRNA [92] kao i da smanjuje ekspresiju gena koji kodira  $\Delta 9$  desaturazu [95,96]. Naša istraživanja su pokazala da konzumiranje soka od nara u trajanju od 6 nedelja kod osoba sa MetS dovodi do smanjenja nivoa arahidonske kiseline i povećanje nivoa ukupnih zasićenih masnih kiselina u plazmi. Osim toga, konzumiranje soka od nara dovelo je do smanjenja nivoa dokozaheksaenske kiseline (*engl.* Docosahexaenoic acid DHA) i povećanja nivoa ukupnih mononezasićenih MK u eritrocitima (ER) [65]. Slično tome, u našoj drugoj studiji koja je trajala samo 2 nedelje, suplementacija sokom od nara dovela je do smanjenja nivoa DHA u plazmi, i povećanja nivoa dihomogama-linolne kiseline u ER, kod osoba sa dislipidemijom [84]. Sok od nara u ovoj studiji uticao je i na procenjene aktivnosti enzima koji su uključeni u biosintezu MK. Tako se aktivnost  $\Delta 9$  smanjila u plazmi nakon konzumiranja soka od nara, dok je u ER procenjena ak-

tivnost  $\Delta 6$  desaturaza bila povećana, a  $\Delta 5$  desaturaze smanjena nakon konzumiranja soka. Naša istraživanja su pokazala da aktivne komponente nara mogu da utiču osim na aktivnost  $\Delta 9$  i  $\Delta 6$  desaturaze i na aktivnost  $\Delta 5$  desaturaze koje je uključena u biosintezu MK. Budući da se mali broj istraživača bavio ovom temom, neophodna su dalja istraživanja koja bi podrazumevala praćenje efekta polifenola nara na ekspresiju gena koji kodiraju enzime koji učestvuju u biosintezi MK.

## EFEKAT NARA NA HIPERTENZIJU

Hipertenzija je hronična bolest kod koje je arterijski krvni pritisak stalno povišen. To je glavni faktor rizika za druge KVB, poput moždanog udara, infarkta miokarda i srčane insuficijencije [97]. Poslednjih godina je uočeno da mnogi sastojci u ishrani mogu da utiču na stanje kardiovaskularnog sistema kod ljudi, kao i da konzumiranje hrane sa visokom antioksidativnom aktivnošću ublažava simptome hipertenzije [98]. Tako su *Shao* i saradnici pokazali da punikalagin smanjuje arterijsku hipertenziju u plućima i ublažava ventrikularnu hipertrofiju, kod pacova [99]. Osim toga *Santos* i saradnici su pokazali da konzumiranje nara redukuje sistolni krvni pritisak i aktivnost koronarnog angiotenzin-konvertujućeg enzima (*engl.* angiotensin-converting enzyme ACE), kod spontano hipertenzivnih pacova [100]. Slično, alkoholni ekstrakt nara, smanjuje sistolni krvni pritisak, pojačava endotelijalno-zavisnu koronarnu relaksaciju i popravlja kardiovaskularne parametre, kod pacova [101].

I brojne humane studije pokazale su da nar može imati hipotenzivni efekat. Tako je pokazano da je kod pacijenata sa DMT2 krvni pritisak bio značajno niži nakon dve nedelje konzumiranja soka od nara ili ekstrakta nara nakon 8 nedelja [85,102]. Slično tome, i u drugim studijama [13,63,103,104] zabeleženi su blagotvorni efekti soka od nara na krvni pritisak i aktivnost ACE u serumu kod pacijenata sa hipertenzijom. Hipotenzivni efekat soka od nara potvrđen je i kod osoba sa DMT2, nakon 6 nedelja konzumiranja 200 ml soka [82]. I naša istraživanja su pokazala da kod osoba sa dislipidemijom nakon 2 nedelje konzumiranja soka od nara dolazi do značajnog smanjenja dijastolnog krvnog pritiska [84], ali nismo dobili takav efekat nakon 6 nedelja konzumiranja soka od nara kod osoba sa MetS [65].

Mehanizam pomoću kojeg neki polifenoli, npr. kao resveratrol i kvercetin, mogu izazvati vazodilataciju krvnih sudova i normalizovati krvni pritisak, zasniva se na uklanjanju superoksid-anion radikala iz cirkulacije čime se povećava bioraspoloživost NO [105]. Pored toga, polifenoli nara mogu da indukuju ekspresiju endotelne azot oksid sintaze i tako utiču na pojačanu sintezu NO, vodeći tako vazodilataciji krvnih sudova [106]. Uticaj soka nara na krvni pritisak verovatno zavisi od količine i tipa polifenolnih jedinjenja kao i od vrste bolesti ispitanika kod kojih se efekat prati.

## EFEKAT NARA NA REDOKS-RAVNOTEŽU

Oksidativni stres je definisan kao stanje u organizmu u kome produkcija slobodnih radikala prevazilazi antioksidativni kapacitet endogenih i egzogenih antioksidanata i aktivnosti enzima antioksidativne zaštite za njihovu eliminaciju. U tom slučaju raste količina reaktivnih vrsta kiseonika (*engl.* Reactive oxygen species ROS) koji reaguju sa proteinima, lipidima i DNK, i na taj način ih oštećuju. Posledice ovih reakcija vode ka promeni metabolizma ćelije i potencijalnog oštećenja čitavih organskih sistema a posebno krvotoka [107–109]. Brojne studije su zaključile da oštećenja ćelija koja izazivaju ROS imaju direktnu ulogu u razvoju i napredovanju mnogih hroničnih bolesti, uključujući aterosklerozu, hipertenziju, insulinsku rezistenciju, DMT2 [110], ali i MetS [111].

Unutarćelijska koncentracija ROS zavisi od produkcije ROS -a u ćeliji kao i od njihovog uklanjanja od strane antioksidativnog sistema. Tri najvažnija antioksidativna enzima, neophodna za održavanje redoks ravnoteže su: SOD, CAT i glutation peroksidaza, GPx [112].

Brojne studije su pokazale da sok od nara i ekstrakt nara imaju pozitivne efekte na oksidativni stres [55,113,114]. Efekat soka od nara ili ekstrakta nara na nivo lipidne peroksidacije i na aktivnost enzima antioksidativne zaštite praćen je na animalnim modelima ali i u humanoj populaciji, kako kod zdravih ispitanika ili elitnih sportista, tako i u različitim metaboličkim oboljenjima.

Naime, administracija 200 mg/kg/dan vodenog ekstrakta kore nara tokom 15 dana smanjuje lipidnu peroksidaciju u srčanom, jetrenom i bubrežnom tkivu, kod pacova [115]. Slično tome, *Al-Gubori* i saradnici su pokazali da tretman 10% ekstraktom kore nara u ishrani tokom 40 dana dovodi do značajnog sniženja lipidne peroksidacije u plazmi kod zdravih miševa [116]. Animalni modeli su pokazali da konzumiranje nara dovodi do smanjenja aktivnosti enzima antioksidativne odbrane kao što su SOD i GPx kod pacova kod kojih je indukovana dijabetes nakon 4 nedelje suplementacije [117].

Osim toga, i brojne humane studije pokazale su da sok od nara može uticati na stepen lipidne peroksidacije u plazmi i eritrocitima (ER). Tako su *Matthaiou* i saradnici pokazali da konzumiranje 500 ml soka od nara dnevno za samo 1 nedelju smanjuje nivo MDA (*engl.* malon dialdehyde), kao krajnjeg proizvoda lipidne peroksidacije u plazmi kod

zdravih ispitanika (Tabela 1.) [118]. Osim toga, značajno smanjenje nivoa MDA primećeno je i kod pacijenata sa DMT2, nakon konzumiranja 250 ml dnevno, tokom 12 nedelja [119]. Takođe, naša ranija studija je pokazala da 300 ml soka od nara u trajanju od 6 nedelja može smanjiti nivo MDA kod žena sa MetS [65]. Isto tako, smanjenje nivoa MDA u serumu nakon 72 nedelje konzumiranja soka od nara primećeno je kod dizača tegova i zdravih volontera [120]. Slični rezultati dobijeni su kod gojaznih i umereno gojaznih osoba koji su konzumirali 1000mg, ekstrakta nara, kao i kod pacijenata na hemodijalizi koji su konzumirali 100ml soka tokom 48 nedelja [121,122]. Iako su brojne studije potvrdile pozitivan efekat konzumiranja soka od nara na stepen lipidne peroksidacije, kod nekih pacijenata kakvi su oni sa reumatoidnim artritisom koji su konzumirali ekstrakt nara tj., 250mg 40% elaginske kiseline u trajanju od 8 nedelja, nije pokazan ovaj efekat [123].

Konzumiranje nara povezano je sa poboljšanjem ćelijskog antioksidativnog kapaciteta, uključujući i povećanje nivoa redukovanoj glutaciona GSH i ukupnog antioksidativnog kapaciteta (TAC), kao i aktivnosti GPx, GR (*engl.* Glutathione reductase), GST (*engl.* Glutathione-S-transferase), SOD i CAT [116,118,119,124].

Aktivnost GPx menja se pod uticajem polifenola nara. Tako je pokazano da se aktivnost GPx u serumu povećava nakon intervencije kod zdravih volontera nakon samo 2 nedelje konzumiranja 250 ml soka od nara [125], ili čak 72 nedelje kod dizača tegova i zdravih ispitanika [120]. Osim toga, u 2 randomizirane studije, nakon 6 ili 8 nedelja konzumiranja ekstrakta nara, odnosno soka od nara u drugoj, došlo je do povećanja nivoa GPx u serumu kod osoba sa reumatoidnim artritisom [123], kao i onih pacijenata sa osteoartritisom koji su konzumirali 200 ml soka od nara [126]. Sa druge strane naši rezultati u dve odvojene studije pokazali su da se nakon konzumiranja 300 ml soka od nara u trajanju od 2 nedelje kod osoba sa dislipidemijom [84] ili u trajanju od 6 nedelja kod osoba sa MetS (rezultati nisu publikovani) aktivnost GPx u ER smanjuje.

Kada govorimo o aktivnosti CAT, ona se uglavnom ne menja tokom suplementacije sokom od nara što je pokazano u različitim randomiziranim studijama. Izuzetak su dizači tegova kod kojih je zabeleženo da se aktivnost CAT u serumu povećana nakon konzumiranja soka od nara [120]. Osim toga u našoj *in vitro* studiji urolitini kao metaboliti EA uticali su na smanjenje nivoa CAT u ćelijskoj liniji humanog epitela kolorektalnog adenokarcinoma [127].

Sa druge strane, konzumiranje soka od nara utiče i na aktivnost SOD što je pokazano u nekoliko randomiziranih studija. Tako je kod zdravih ispitanika nakon 2 nedelje došlo do povećanja aktivnosti SOD u serumu [125]. Međutim, naše studije nisu pokazale promenu u aktivnosti SOD u ER nakon 2 [84] i 6 (rezultati nisu publikovani) nedelja konzumiranja soka od nara, kod osoba sa MetS i osoba sa dislipidemijom.

Iako tačan mehanizam na koji deluju polifenoli iz nara nije sasvim razjašnjen, jedan od načina je da oni doniraju elektron iz OH grupe fenolnih prstenova, slobodnom radikalu kao što je superoksid anjon radikal ili hidroksi radikal. Na taj način dolazi do stabilizacije ili inaktiviranja slobodnih radikala čime se zaustavljaju slobodno-radikalne lančane reakcije i tako smanjuju oksidativna oštećenja proteina, lipida i DNK molekula [47,128]. Pored toga, glavna bioaktivna komponenta nara, punikalagin, poznat je kao helator Fe i čistač vodonik-peroksida [129] i tako doprinosi smanjenju oksidativnog stresa u organizmu. Već smo pomenuli da neki polifenoli aktiviraju enzime antioksidativne odbrane i tako doprinose smanjenju oksidativnog stresa.

Disproporcija među rezultatima koja je dobijena u studijama zavisi od brojnih faktora: od količine soka koji se konzumira, dužine trajanja studija, ispitanika i njihovih pridruženih bolesti, količine polifenola u sokovima, metoda kojima su određivani ispitivani parametri itd. Zbog toga je potreban veći broj interventnih studija koje bi potvrdile korisne efekte soka od nara na redoks ravnotežu u različitim metaboličkim poremećajima uključujući i stanje MetS.

## ZAKLJUČAK

Nar je bogat izvor širokog spektra jedinjenja sa korisnim biološkim dejstvom pre svega na metabolizam lipida i redoks ravnotežu. Konzumiranje soka od nara ima preventivnu ulogu ili čak poboljšava tok bolesti kao što su gojaznost, dijabetes, KVB. Međutim, zbog disproporcije koja postoji među rezultatima neophodna su dalja istraživanja koja treba da otkriju tačan mehanizam delovanja bioaktivnih sastojaka nara i njegov potpun potencijal kao preventivno i terapijsko sredstvo kod bolesti koje čine komponente MetS-a.

## ZAHVALNICA

Ovaj rad je podržan od strane Ministarstva za obrazovanje, nauku i tehnološki razvoj, Republike Srbije, ugovor broj 451-03-68/2020-14/200015.

Doza	Dužina suplementacije	Ispitanici	Efekat na lipidni profil i oksidativni stres	Reference
200 ml	6 nedelja	Dijabetičari tip 2	LDL-holesterol ↓, Holesterol ↓, MDA ↓	[62]
300 ml	6 nedelja	Pacijenti sa MetS	MDA ↓	[65]
500 ml	8 nedelja	Gojazne žene sa hiperlipidemijom	Holesterol ↓, LDL-holesterol ↓, TG ↓	[78]
200 ml	6 nedelja	Dijabetičari tip 2	LDL-holesterol ↓, Holesterol ↓	[82]
40 g/dan	8 nedelja	Dijabetičari tip 2 sa hiperlipidemijom	LDL-holesterol ↓, LDL/HDL Holesterol ↓	[83]
300ml	2 nedelje	Gojazne osobe sa dislipidemijom	LDL-holesterol ↓; GPx ↓	[84]
45 g	3 meseca	Dijabetičari tip 2	Nema uticaja	[87]
300 ml	6 nedelja	Pacijenti sa MetS	GPx ↓	Rezultati nisu publikovani
500 ml	1 nedelja	Zdravi volonteri	MDA ↓	[118]
250 ml	12 nedelja	Dijabetičari tip 2	MDA ↓	[119]
100 ml	48 nedelja	Pacijenti na hemodijalizi	MDA ↓	[122]
250 ml	2 nedelje	Zdravi volonteri	GPx ↑, SOD ↑	[125]
200 ml	8 nedelja	Pacijenti sa osteoartritisom	GPx ↑	[126]

**Tabela 1.** Efekat soka od nara na lipidne i parametre oksidativnog stresa u humanim studijama MetS-metabolički sindrom, LDL-holesterol (engl. low density lipoprotein), HDL- holesterol (engl. high density lipoprotein), MDA (engl. malondyaldehide), GPx (engl. glutathione peroxidase), SOD (engl. superoxide dismutase)

## Literatura

- Bhandari P. Pomegranate (*Punica granatum L.*). Ancient seeds for modern cure? Review of potential therapeutic applications. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases* 2012;2 (3):171–84.
- Viuda-Martos M, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Pomegranate and its Many Functional Components as Related to Human Health: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2010;9 (6):635–54.
- Aviram M, Kaplan M, Rosenblat M, Fuhrman B. Dietary antioxidants and paraoxonases against LDL oxidation and atherosclerosis development. *Handbook of Experimental Pharmacology* 2005;(170):263–300.
- Seeram NP, Aviram M, Zhang Y, Henning SM, Feng L, Dreher M, et al. Comparison of antioxidant potency of commonly consumed polyphenol-rich beverages in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008;56 (4):1415–22.
- Rozenberg O, Howell A, Aviram M. Pomegranate juice sugar fraction reduces macrophage oxidative state, whereas white grape juice sugar fraction increases it. *Atherosclerosis*. 2006;188 (1):68–76.
- Fischer UA, Carle R, Kammerer DR. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum L.*) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MS(n). *Food Chemistry* 2011;127 (2):807–21.
- Young JE, Pan Z, Teh HE, Menon V, Modereger B, Pesek JJ, et al. Phenolic composition of pomegranate peel extracts using an liquid chromatography-mass spectrometry approach with silica hydride columns. *Journal of Separation Science* 2017;40 (7):1449–56.
- Srikanthan K, Feyh A, Visveshwar H, Shapiro JI, Sodhi K. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *International Journal of Medicine* 2016;13 (1):25–38.
- Forni C, Facchiano F, Bartoli M, Pieretti S, Facchiano A, D'Arcangelo D, et al. Beneficial Role of Phytochemicals on Oxidative Stress and Age-Related Diseases. *BioMed Research International* 2019;2019:8748253.
- Finicelli M, Squillaro T, Di Cristo F, Di Salle A, Melone MAB, Galderisi U, et al. Metabolic syndrome, Mediterranean diet, and polyphenols: Evidence and perspectives. *Journal of Cellular Physiology* 2019 May;234 (5):5807–26.
- Vucic V, Grabez M, Trchounian A, Arsic A. Composition and Potential Health Benefits of Pomegranate: A Review. *Current Pharmaceutical Design* 2019;25 (16):1817–27.
- Martin KR. Pomegranates: Ancient Roots to Modern Medicine. In: Seeram NP, Schulman RN, Heber D, editors. *Angewandte Chemie International Edition*. Los Angeles: CRC press; 2007. p. 67-68.
- Zarfeshany A, Asgary S, Javanmard SH. Potent health effects of pomegranate. *Advanced Biomedical Research* 2014;3:100.
- Lakey-Beitia J, Berrocal R, Rao KS, Durant AA. Polyphenols as therapeutic molecules in Alzheimer's disease through modulating amyloid pathways. *Molecular Neurobiology* 2015;51 (2):466–79.

15. Choi D-Y, Lee Y-J, Hong JT, Lee H-J. Antioxidant properties of natural polyphenols and their therapeutic potentials for Alzheimer's disease. *Brain Research Bulletin* 2012;87 (2):144–53.
16. Tsao R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients* 2010;2 (12): 231-1246.
17. Wolfe KL, Kang X, He X, Dong M, Zhang Q, Liu RH. Cellular antioxidant activity of common fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2008;56 (18):8418–26.
18. Thilakarathna SH, Rupasinghe HPV. Flavonoid Bioavailability and Attempts for Bioavailability Enhancement. *Nutrients* 2013;5 (9):3367–87.
19. Han X, Shen T, Lou H. Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences* 2007; 8(9): 950–988.
20. Silveira AC, Dias JP, Santos VM, Oliveira PF, Alves MG, Rato L, et al. The Action of Polyphenols in Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease: A Common Agent for Overlapping Pathologies. *Current Neuropharmacology* 2019;17 (7):590–613.
21. El Gharras H. Polyphenols: food sources, properties and applications – a review. *International Journal of Food Science Technology* 2009;44 (12):2512–8.
22. Lee W-H, Loo C-Y, Bebawy M, Luk F, Mason RS, Rohanizadeh R. Curcumin and its derivatives: their application in neuropharmacology and neuroscience in the 21st century. *Current Neuropharmacology* 2013;11 (4):338–78.
23. Brglez Mojzer E, Knez Hrcic M, Skerget M, Knez Z, Bren U. Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*. 2016; 21 (7):901.
24. Gil MI, García-Viguera C, Artés F, Tomás-Barberán FA. Changes in pomegranate juice pigmentation during ripening. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1995;68 (1):77–81.
25. Gil MI, Tomás-Barberán FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000;48 (10):4581–9.
26. Arapitsas P, Menichetti S, Vincieri FF, Romani A. Hydrolyzable Tannins with the Hexahydroxydiphenoyl Unit and the m-Depsidic Link: HPLC-DAD-MS Identification and Model Synthesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007;55 (1):48–55.
27. Bakalbaşı E, Menteş O, Artık N. Food ellagitannins-occurrence, effects of processing and storage. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2009;49 (3):283–98.
28. González-Sarriás A, García-Villalba R, Núñez-Sánchez MÁ, Tomé-Carneiro J, Zafrilla P, Mulero J, et al. Identifying the limits for ellagic acid bioavailability: A crossover pharmacokinetic study in healthy volunteers after consumption of pomegranate extracts. *Journal of Functional Foods* 2015;19 (A):225–35.
29. Cerdá B, Llorach R, Cerón JJ, Espín JC, Tomás-Barberán FA. Evaluation of the bioavailability and metabolism in the rat of punicalagin, an antioxidant polyphenol from pomegranate juice. *European Journal of Nutrition* 2003;42 (1):18–28.
30. Tomás-Barberán FA, García-Villalba R, González-Sarriás A, Selma M V, Espín JC. Ellagic acid metabolism by human gut microbiota: consistent observation of three urolithin phenotypes in intervention trials, independent of food source, age, and health status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2014;62 (28):6535–8.
31. Whitley AC, Sweet DH, Walle T. Site-specific accumulation of the cancer preventive dietary polyphenol ellagic acid in epithelial cells of the aerodigestive tract. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Pharmacology* 2006;58 (9):1201–9.
32. Nuñez-Sánchez MA, García-Villalba R, Monedero-Saiz T, García-Talavera NV, Gómez-Sánchez MB, Sánchez-Álvarez C, et al. Targeted metabolic profiling of pomegranate polyphenols and urolithins in plasma, urine and colon tissues from colorectal cancer patients. *Molecular Nutrition & Food Research* 2014;58 (6):1199–211.
33. Vázquez-Araújo L, Chambers E 4th, Adhikari K, Carbonell-Barrachina ÁA. Sensory and physicochemical characterization of juices made with pomegranate and blueberries, blackberries, or raspberries. *J Food Sci*. 2010;75 (7):S398-404.
34. Melgarejo P, Calín-Sánchez Á, Vázquez-Araújo L, Hernández F, Martínez JJ, Legua P, et al. Volatile composition of pomegranates from 9 Spanish cultivars using headspace solid phase microextraction. *Journal of Food Science* 2011;76(1):S114-20.
35. Amakura Y, Okada M, Tsuji S, Tonogai Y. Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 2000;891 (1):183–8.
36. Schwartz E, Tzulker R, Glazer I, Bar-Ya'akov I, Wiesman Z, Tripler E, et al. Environmental conditions affect the color, taste, and antioxidant capacity of 11 pomegranate accessions' fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009;57 (19):9197–209.
37. Kaufman M, Wiesman Z. Pomegranate oil analysis with emphasis on MALDI-TOF/MS triacylglycerol fingerprinting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007;55 (25):10405–13.
38. Elfalleh W, Ying M, Nasri N, Sheng-Hua H, Guasmi F, Ferchichi A. Fatty acids from Tunisian and Chinese pomegranate (*Punica granatum L.*) seeds. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 201;62 (3):200–6.
39. Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MCB, Rahu N. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2016;2016:7432797.
40. Tsai H-Y, Ho C-T, Chen Y-K. Biological actions and molecular effects of resveratrol, pterostilbene, and 3'-hydroxypterostilbene. *Journal of Food and Drug Analysis* 2017;25 (1):134–47.
41. Avetisyan A, Markosian A, Petrosyan M, Sahakyan N, Babayan A, Aloyan S, et al. Chemical composition and some biological activities of the essential oils from basil *Ocimum* different cultivars. *BMC complementary and alternative medicine* 2017;17 (1):60.
42. Castañeda-Ovando A, Pacheco-Hernández M de L, Páez-Hernández ME, Rodríguez JA, Galán-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 2009;113 (4):859–71.
43. Fraga CG, Galleano M, Verstraeten S V, Oteiza PI. Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols. *Molecular Aspects of Medicine* 2010;31 (6):435–45.
44. Aloqbi A, Omar U, Yousr M, Grace M, Lila M, Howell N. Antioxidant Activity of Pomegranate Juice and Punicalagin. *Natural Sciences* 2016;08 (06):235–46.
45. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *American Journal of Medicine* 1991;91 (3C):145-225.
46. Rodrigo R, Bosco C. Oxidative stress and protective effects of polyphenols: comparative studies in human and rodent kidney. A review. *Comparative Biochemistry and Physiology: CBP* 2006;142 (3–4):317–27.
47. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DEC, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PAM. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *American Journal of Clinical Nutrition* 2001;74 (4):418–25.
48. Vauzour D, Rodriguez-Mateos A, Corona G, Oruna-Concha MJ, Spencer JPE. Polyphenols and human health: prevention of disease and mechanisms of action. *Nutrients* 2010;2 (11):1106–31.
49. Bryan HK, Olayanju A, Goldring CE, Park BK. The Nrf2 cell defence pathway: Keap1-dependent and -independent mechanisms of regulation.

- Biochemical Pharmacology 2013 Mar;85 (6):705–17.
50. Copple IM, Goldring CE, Kitteringham NR, Park BK. The Nrf2-Keap1 defence pathway: role in protection against drug-induced toxicity. *Toxicology* 2008;246 (1):24–33.
  51. Sun W, Yan C, Frost B, Wang X, Hou C, Zeng M, et al. Pomegranate extract decreases oxidative stress and alleviates mitochondrial impairment by activating AMPK-Nrf2 in hypothalamic paraventricular nucleus of spontaneously hypertensive rats. *Scientific Reports* 2016;6:34246.
  52. Yan C, Sun W, Wang X, Long J, Liu X, Feng Z, et al. Punicalagin attenuates palmitate-induced lipotoxicity in HepG2 cells by activating the Keap1-Nrf2 antioxidant defense system. *Molecular Nutrition and Food Research* 2016;60 (5):1139–49.
  53. Sekiya M, Hiraishi A, Touyama M, Sakamoto K. Oxidative stress induced lipid accumulation via SREBP1c activation in HepG2 cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2008;375 (4):602–7.
  54. Giera M, Lingeman H, Niessen WMA. Recent Advancements in the LC- and GC-Based Analysis of Malondialdehyde (MDA): A Brief Overview. *Chromatographia*. 2012;75 (9–10):433–40.
  55. Ahmed ST, Islam MM, Bostami ABMR, Mun H-S, Kim Y-J, Yang C-J. Meat composition, fatty acid profile and oxidative stability of meat from broilers supplemented with pomegranate (*Punica granatum L.*) by-products. *Food Chemistry* 2015;188:481–8.
  56. Vetterli L, Brun T, Giovannoni L, Bosco D, Maechler P. Resveratrol potentiates glucose-stimulated insulin secretion in INS-1E beta-cells and human islets through a SIRT1-dependent mechanism. *Journal of Biological Chemistry* 2011;286 (8):6049–60.
  57. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection E, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation and treatment of high cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106:3143–421.
  58. Amri Z, Ben Khedher MR, Zaibi MS, Kharroubi W, Turki M, Ayadi F, et al. Anti-diabetic effects of pomegranate extracts in long-term high fructose-fat fed rats. *Clinical Hypertension* 2020;6(1).
  59. Barrett A, Ndou T, Hughey CA, Straut C, Howell A, Dai Z, et al. Inhibition of  $\alpha$ -amylase and glucoamylase by tannins extracted from cocoa, pomegranates, cranberries, and grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2013;61 (7):1477–86.
  60. Amor AJ, Gómez-Guerrero C, Ortega E, Sala-Vila A, Lázaro I. Ellagic Acid as a Tool to Limit the Diabetes Burden: Updated Evidence. *Antioxidants* 2020;9 (12):1226.
  61. Adisakwattana S, Jiphimai P, Prutanopajai P, Chanathong B, Sapwarobol S, Ariyapitpan T. Evaluation of alpha-glucosidase, alpha-amylase and protein glycation inhibitory activities of edible plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2010;61 (3):295–305.
  62. Parsaeyan N, Mozaffari-Khosravi H, Mozayan MR. Effect of pomegranate juice on paraoxonase enzyme activity in patients with type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders* 2012;11 (1):11.
  63. Aviram M, Rosenblat M, Gaitini D, Nitecki S, Hoffman A, Dornfeld L, et al. Pomegranate juice consumption for 3 years by patients with carotid artery stenosis reduces common carotid intima-media thickness, blood pressure and LDL oxidation. *Clinical Nutrition* 2004;23 (3):423–33.
  64. Basu A, Newman ED, Bryant AL, Lyons TJ, Betts NM. Pomegranate Polyphenols Lower Lipid Peroxidation in Adults with Type 2 Diabetes but Have No Effects in Healthy Volunteers: A Pilot Study Arpita. *Journal of Nutrition and Metabolism* 2013;2013:708381.
  65. Kojadinovic MI, Arsic AC, Debeljak-Martacic JD, Konic-Ristic AI, Kardum ND, Popovic TB, et al. Consumption of pomegranate juice decreases blood lipid peroxidation and levels of arachidonic acid in women with metabolic syndrome. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2017 ;97 (6):1798–804.
  66. Sumner MD, Elliott-Eller M, Weidner G, Daubenmier JJ, Chew MH, Marlin R, et al. Effects of pomegranate juice consumption on myocardial perfusion in patients with coronary heart disease. *American Journal of Cardiology* 2005;96 (6):810–4.
  67. González-Ortiz M, Martínez-Abundis E, Espinel-Bermúdez MC, Pérez-Rubio KG. Effect of pomegranate juice on insulin secretion and sensitivity in patients with obesity. *Annals of Nutrition and Metabolism* 2011;58 (3):220–3.
  68. Moazzen H, Alizadeh M. Effects of Pomegranate Juice on Cardiovascular Risk Factors in Patients with Metabolic Syndrome: a Double-Blinded, Randomized Crossover Controlled Trial. *Plant Foods for Human Nutrition* 2017;72 (2):126–33.
  69. Faghihimani Z, Mirmiran P, Sohrab G, Iraj B, Faghihimani E. Effects of Pomegranate Seed Oil on Metabolic State of Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Preventive Medicine* 2016;7:124.
  70. Sohrab G, Nasrollahzadeh J, Zand H, Amiri Z, Tohidi M, Kimiagar M. Effects of pomegranate juice consumption on inflammatory markers in patients with type 2 diabetes: A randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Research in Medical Sciences* 2014;19 (3):215–20.
  71. Huang H, Liao D, Chen G, Chen H, Zhu Y. Lack of efficacy of pomegranate supplementation for glucose management, insulin levels and sensitivity: evidence from a systematic review and meta-analysis. *Nutr Journal* 2017;16 (1):67.
  72. Medjakovic S, Jungbauer A. Pomegranate: a fruit that ameliorates metabolic syndrome. *Food Function* 2013;4 (1):19–39.
  73. James WPT, Jakson-Leach R, Mhurchu CN, Kalamara E, Shayeghi M, Rigby NJ, Nishida C. Overweight and obesity (high body mass index). Geneva : World Health Organization; 2003. p.497–596.
  74. Khoshnour J, Nusratun N, Tohmina Afroze B AH and Mohammed R. Can *Punica granatum* be a Miracle in Ameliorating Obesity? - A Short Review. *EC Pharmacology and Toxicology* 2020;8 (6):52–60.
  75. Bounihi A, Bitam A, Bouazza A, Yargui L, Koceir EA. Fruit vinegars attenuate cardiac injury via anti-inflammatory and anti-adiposity actions in high-fat diet-induced obese rats. *Pharmaceutical Biology* 2017;55 (1):43–52.
  76. Adnyana IK, Sukandar EY, Yuniarto A, Setiawan F. Anti-obesity Effect of the Pomegranate Leaves Ethanol Extract (*Punicagranatum L.*) in High-Fat Diet induced Mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2014;6 (4):626–31.
  77. Trichur Khabeer S, Prashant A, Haravey Krishnan M. Dietary fatty acids from pomegranate seeds (*Punica granatum*) inhibit adipogenesis and impact the expression of the obesity-associated mRNA transcripts in human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Journal of Food Biochemistry* 2019;43 (3):e12739.
  78. Haghghian M, Rafraf M, Moghaddam A, Hemmati S, Jafarabadi M, Gargari B. Pomegranate (*Punica granatum L.*) peel hydro alcoholic extract ameliorates cardiovascular risk factors in obese women with dyslipidemia: A double blind, randomized, placebo controlled pilot study. *European Journal of Integrative Medicine* 2016;8 (5):676–82.
  79. Jang A, Srinivasan P, Lee NY, Song HP, Lee JW, Lee M, et al. Comparison of hypolipidemic activity of synthetic gallic acid-linoleic acid ester with mixture of gallic acid and linoleic acid, gallic acid, and linoleic acid on high-fat diet induced obesity in C57BL/6 Cr Slc mice. *Chemico-Biological Interactions* 2008;174 (2):109–17.
  80. Yamasaki M, Kitagawa T, Koyanagi N, Chujo H, Maeda H, Kohno-Murase J, et al. Dietary effect of pomegranate seed oil on immune function and lipid metabolism in mice. *Nutrition*. 2006;22 (1):54–9.
  81. McFarlin BK, Strohacker KA, Kueht ML. Pomegranate seed oil consumption during a period of high-fat feeding reduces weight gain and reduces type 2 diabetes risk in CD-1 mice. *British Journal of Nutrition* 2009;102 (1):54–9.

82. Sohrab G, Roshan H, Ebrahimof S, Nikpayam O, Sotoudeh G, Siasi F. Effects of pomegranate juice consumption on blood pressure and lipid profile in patients with type 2 diabetes: A single-blind randomized clinical trial. *Clinical Nutrition ESPEN* 2019;29:30–5.
83. Esmailzadeh A, Tahbaz F, Gaieni I, Alavi-Majd H, Azadbakht L. Concentrated pomegranate juice improves lipid profiles in diabetic patients with hyperlipidemia. *Journal of Medicinal Food* 2004;7 (3):305–8.
84. Kojadinovic M, Glibetic M, Vucic V, Popovic M, Vidovic N, Debeljak-Martacic J, et al. Short-Term Consumption of Pomegranate Juice Alleviates Some Metabolic Disturbances in Overweight Patients with Dyslipidemia. *Journal of Medicinal Food* 2021, <https://doi.org/10.1089/jmf.2020.0122>
85. Shishehbor F, Mohammad Shahi M, Zarei M, Saki A, Zakerkish M, Shirani F, et al. Effects of Concentrated Pomegranate Juice on Subclinical Inflammation and Cardiometabolic Risk Factors for Type 2 Diabetes: A Quasi-Experimental Study. *International Journal of Endocrinology and Metabolism* 2016;14 (1):e33835.
86. Hajimahmoodi M, Oveisi MR, Sadeghi N, Jannat B, Nateghi M. Antioxidant Capacity of Plasma after Pomegranate Intake in Human Volunteers. *Acta Medica Iranica* 1970;47 (2):125-132.
87. Rashidi AA, Jafari-Mensadi F, Zinsaz A, Sadafi Z. Effect of concentrated pomegranate juice consumption on glucose and lipid profile concentrations in type 2 diabetic patients. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 2013;15 (6):40–2.
88. Sahebkar A, Simental-Mendia LE, Giorgini P, Ferri C, Grassi D. Lipid profile changes after pomegranate consumption: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytomedicine* 2016;23 (11):1103–12.
89. Hsu S-C, Huang C. Changes in liver PPARalpha mRNA expression in response to two levels of high-safflower-oil diets correlate with changes in adiposity and serum leptin in rats and mice. *Journal of Nutritional Biochemistry* 2007;18 (2):86–96.
90. Viladomiu M, Hontecillas R, Lu P, Bassaganya-Riera J. Preventive and Prophylactic Mechanisms of Action of Pomegranate Bioactive Constituents. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013;2013:789764.
91. Jansen R, Embden JDA van, Gaastra W, Schouls LM. Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. *Molecular Microbiology* 2002;43 (6):1565–75.
92. Ogino Y, Osada K, Nakamura S, Ohta Y, Kanda T, Sugano M. Absorption of dietary cholesterol oxidation products and their downstream metabolic effects are reduced by dietary apple polyphenols. *Lipids*. 2007;42 (2):151–61.
93. Aoun M, Michel F, Fouret G, Casas F, Jullien M, Wrutniak-Cabello C, et al. A polyphenol extract modifies quantity but not quality of liver fatty acid content in high-fat-high-sucrose diet-fed rats: possible implication of the sirtuin pathway. *British Journal of Nutrition* 2010;104 (12):1760–70.
94. Kardum N, Petrovic-Oggiano G, Takic M, Glibetic N, Zec M, Debeljak-Martacic J, et al. Effects of glucomannan-enriched, aronia juice-based supplement on cellular antioxidant enzymes and membrane lipid status in subjects with abdominal obesity. *Scientific World Journal* 2014;2014:869250.
95. Ajmo JM, Liang X, Rogers CQ, Pennock B, You M. Resveratrol alleviates alcoholic fatty liver in mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 2008;295 (4):G833-42.
96. Klaus S, Pültz S, Thöne-Reineke C, Wolfram S. Epigallocatechin gallate attenuates diet-induced obesity in mice by decreasing energy absorption and increasing fat oxidation. *International Journal of Obesity* 2005;29 (6):615–23.
97. Sahebkar A, Ferri C, Giorgini P, Nachtigal P, Grassi D. Effects of pomegranate juice on blood pressure: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Pharmacological Research* 2017;115:149-161.
98. Huang W-Y, Davidge ST, Wu J. Bioactive natural constituents from food sources-potential use in hypertension prevention and treatment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2013;53 (6):615–30.
99. Shao J, Wang P, Liu A, Du X, Bai J, Chen M. Punicalagin Prevents Hypoxic Pulmonary Hypertension via Anti-Oxidant Effects in Rats. *American Journal of Chinese Medicine* 2016;44 (4):785–801.
100. Dos Santos RL, Dellacqua LO, Delgado NTB, Rouver WN, Podratz PL, Lima LCF, et al. Pomegranate peel extract attenuates oxidative stress by decreasing coronary angiotensin-converting enzyme (ACE) activity in hypertensive female rats. *Toxicology and Environmental Health* 2016;79 (21):998–1007.
101. Delgado NTB, Rouver W do N, Freitas-Lima LC, de Paula TD-C, Duarte A, Silva JF, et al. Pomegranate Extract Enhances Endothelium-Dependent Coronary Relaxation in Isolated Perfused Hearts from Spontaneously Hypertensive Ovariectomized Rats. *Frontiers in Pharmacology* 2016;7:522.
102. Grabez M, Skrbić R, Stojiljkovic MP, Rudic-Grujic V, Paunovic M, Arsić A, et al. Beneficial effects of pomegranate peel extract on plasma lipid profile, fatty acids levels and blood pressure in patients with diabetes mellitus type-2: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Functional Foods* 2020;64:10392.
103. Aviram M, Dornfeld L. Pomegranate juice consumption inhibits serum angiotensin converting enzyme activity and reduces systolic blood pressure. *Atherosclerosis* 2001 ;158 (1):195–8.
104. Asgary S, Keshvari M, Sahebkar A, Hashemi M, Rafeieian-Kopaei M. Clinical investigation of the acute effects of pomegranate juice on blood pressure and endothelial function in hypertensive individuals. *ARYA Atherosclerosis* 2013;9 (6):326–31.
105. Knox M, Vinet R, Fuentes L, Morales B, Martínez JL. A Review of Endothelium-Dependent and -Independent Vasodilation Induced by Phytochemicals in Isolated Rat Aorta. *Animals* 2019;9 (9):623.
106. Olszanecki R, Gebaska A, Kozlovski VI, Gryglewski RJ. Flavonoids and nitric oxide synthase. *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society* 2002;53 (4 Pt 1):571–84.
107. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in the Vasculature. *Hypertension* 2003;42(6):1075–81.
108. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2004;24 (5):816–23.
109. Otani H. Oxidative stress as pathogenesis of cardiovascular risk associated with metabolic syndrome. *Antioxidants and Redox Signaling* 2011;15 (7):1911–26.
110. Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Morioka K, et al. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003;88 (10):4673–6.
111. Ford ES, Mokdad AH, Giles WH, Brown DW. The metabolic syndrome and antioxidant concentrations: findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes* 2003;52 (9):2346–52.
112. McCord JM, Keele BBJ, Fridovich I. An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxide dismutase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 1971;68 (5):1024–7.
113. Rosenblat M, Hayek T, Aviram M. Anti-oxidative effects of pomegranate juice (PJ) consumption by diabetic patients on serum and on macrophages. *Atherosclerosis* 2006;187 (2):363–71.



114. Zou X, Yan C, Shi Y, Cao K, Xu J, Wang X, et al. Mitochondrial dysfunction in obesity-associated nonalcoholic fatty liver disease: the protective effects of pomegranate with its active component punicalagin. *Antioxidans and Redox Signaling* 2014;21 (11):1557–70.
115. Parmar HS, Kar A. Medicinal values of fruit peels from *Citrus sinensis*, *Punica granatum*, and *Musa paradisiaca* with respect to alterations in tissue lipid peroxidation and serum concentration of glucose, insulin, and thyroid hormones. *Journal of Medicinal Food*. 2008;11 (2):376–81.
116. Al-Gubory KH, Blachier F, Faure P, Garrel C. Pomegranate peel extract decreases small intestine lipid peroxidation by enhancing activities of major antioxidant enzymes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2016;96 (10):3462–8.
117. Mollazadeh H, Boroushaki MT, Soukhtanloo M, Afshari AR, Vahedi MM. Effects of pomegranate seed oil on oxidant/antioxidant balance in heart and kidney homogenates and mitochondria of diabetic rats and high glucose-treated H9c2 cell line. *Avicenna Journal of Phytomedicine* 2017;7 (4):317–33.
118. Matthaiou CM, Goutzourelas N, Stagos D, Sarafoglou E, Jamurtas A, Koulocheri SD, et al. Pomegranate juice consumption increases GSH levels and reduces lipid and protein oxidation in human blood. *Food and Chemical Toxicology* 2014;73:1–6.
119. Sohrab G, Angoorani P, Tohidi M, Tabibi H, Kimiagar M, Nasrollahzadeh J. Pomegranate (*Punicagranatum*) juice decreases lipid peroxidation, but has no effect on plasma advanced glycated end-products in adults with type 2 diabetes: A randomized double-blind clinical trial. *Food and Nutrition Research* 2015;59 (8):1–6.
120. Ammar A, Turki M, Hammouda O, Chtourou H, Trabelsi K, Bouaziz M, et al. Effects of Pomegranate Juice Supplementation on Oxidative Stress Biomarkers Following Weightlifting Exercise. *Nutrients* 2017;9 (8):819.
121. Hosseini B, Saedisomeolia A, Wood LG, Yaseri M, Tavasoli S. Effects of pomegranate extract supplementation on inflammation in overweight and obese individuals: A randomized controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice* 2016;22:44–50.
122. Shema-Didi L, Sela S, Ore L, Shapiro G, Geron R, Moshe G, et al. One year of pomegranate juice intake decreases oxidative stress, inflammation, and incidence of infections in hemodialysis patients: a randomized placebo-controlled trial. *Free Radical Biology and Medicine* 2012;53 (2):297–304.
123. Ghavipour M, Sotoudeh G, Tavakoli E, Mowla K, Hasanzadeh J, Mazloom Z. Pomegranate extract alleviates disease activity and some blood biomarkers of inflammation and oxidative stress in Rheumatoid Arthritis patients. *European Journal of Nutrition* 2017;71 (1):92–6.
124. Bagri P, Ali M, Aeri V, Bhowmik M, Sultana S. Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and Chemical Toxicology* 2009;47 (1):50–4.
125. Mazani M, Fard AS, Baghi AN, Nemati A, Mogadam RA. Effect of pomegranate juice supplementation on matrix metalloproteinases 2 and 9 following exhaustive exercise in young healthy males. *Journal of the Pakistan Medical Association* 2014;64 (7):785–90.
126. Ghoochani N, Karandish M, Mowla K, Haghighizadeh MH, Jalali MT. The effect of pomegranate juice on clinical signs, matrix metalloproteinases and antioxidant status in patients with knee osteoarthritis. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2016 ;96 (13):4377–81.
127. Kojadinovic M, Arsic A, Petovic-Oggiano G, Gavrovic-Jankulovic M, Glibetic M, Popovic M. Effect of urolithins on oxidative stress of colorectal adenocarcinoma cells-Caco-2. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 2017;68 (8):952–9.
128. Castaneda-Ovando A, De Lourdes Pacheco-Hernandez M, Paez-Hernandez ME, Rodriguez JA G-VC. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry* 2009;113 (4):859–71.
129. Cao K, Xu J, Pu W, Dong Z, Sun L, Zang W, et al. Punicalagin, an active component in pomegranate, ameliorates cardiac mitochondrial impairment in obese rats via AMPK activation. *Scientific Report* 2015;5 (1):14014.



**MOLEKULARNA BIOLOGIJA PROKARIOTA**  
**MOLECULAR BIOLOGY OF PROKARYOTES**



## IMPRESUM

### Trendovi u molekularnoj biologiji, 2021.

Izdavač

**Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,  
Univerzitet u Beogradu**

Uređivački odbor

Dr **Sonja Pavlović**, naučni savetnik,  
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo  
Univerzitet u Beogradu

Dr **Jelena Begović**, naučni savetnik,  
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo  
Univerzitet u Beogradu

Prof. dr **Ivana Novaković**, redovni profesor,  
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr **Dužanka Savić Pavićević**, redovni profesor,  
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Ana Đorđević**, naučni savetnik,  
Univerzitet u Beogradu Institut za biološka istraživanja  
„Siniša Stanković“

Recenzenti

Dr **Svetlana Radović**, redovni profesor,  
Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Vesna Škodrić Trifunović**, redovni profesor,  
Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Dr **Gordana Nikčević**, naučni savetnik,  
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo  
Univerzitet u Beogradu

Dizajn i izrada korica

**Ivan Strahinić**

Štampa

**Curent Print**, Beograd

Periodičnost izlaza publikacije

**Godišnje**

Tiraž

**200 primeraka**

### Autori

Anđelković Marina .....	71
Arsić Aleksandra .....	152
Bosnić Dragana .....	180
Djusalov Mila .....	21
Đorić Ilona .....	133
Gadjanski Ivana .....	21
Gašić Vladimir .....	113
Išić Denčić Tijana .....	96
Janjušević Ljiljana .....	21
Janković Miljuš Jelena .....	133
Janković Radmila .....	96
Jovčić Branko .....	166
Keckarević Dušan .....	54
Keckarević Marković Milica .....	54
Kecmanović Miljana .....	54
Knežić Teodora .....	21
Kojadinović Milica .....	152
Kokanov Nikola .....	123
Komazec Jovana .....	84
Kosijer Petar .....	21
Kotur Nikola .....	6
Kožik Bojana .....	123
Krajnović Milena .....	123
Malešević Milka .....	166
Nikolić Dragana .....	180
Panić Marko .....	33
Perić Stojan .....	60
Pešović Jovan .....	60
Popović D. Željko .....	21
Radenković Lana .....	60
Rakićević Ljiljana .....	146
Rakočević-Stojanović Vidosava .....	60
Ristić Nina .....	96
Samardžić Jelena .....	180
Savić-Pavićević Dužanka .....	60
Šelemetjev Sonja .....	133
Skakić Anita .....	42
Spasovski Vesna .....	107
Stanković Biljana .....	6
Stojiljković Maja .....	42
Tošić Nataša .....	113
Ugrin Milena .....	84
Vreća Miša .....	107
Zukić Branka .....	6

CIP - Каталогизacija y publikaciji  
Народна библиотека Србије, Београд

577.2

**TRENDOVI u molekularnoj biologiji** = Trends in  
Molecular Biology. - 2021, br. 1 (sep.)- . - Beograd :  
Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo,  
2021- (Beograd : Curent Print). - 28 cm

Godišnje. - Tekst na srp. i engl. jeziku.  
ISSN 2787-2947 = Trendovi u molekularnoj biologiji  
COBISS.SR-ID 45105929