

ПОТЕНЦИЈАЛНА ПРИМЕНА ГЕНЕТСКИ МОДИФИКОВАНИХ ОРГАНИЗАМА У ЗАШТИТИ ЖИВОТНЕ СРЕДИНЕ

Татјана Маринковић¹, Марко Војводић¹, Драган Маринковић^{1,2}
e-mail: tatjana.marinkovic@hotmail.com

РЕЗИМЕ

Од свог утемељења у седамдесетим годинама двадесетог века до данас, технологија генетичког инжењерства отворила је широк низ примена пре свега у науци, производњи лекова, медицини и производњи хране. Употреба генетски модификованих организама у овим делатностима једно је од најактуелнијих питања данашњице на које тек треба да се дефинишу одговори. Од свих актуелних тема из ове области најмање је пажње посвећено потенцијалној примени генетски модификованих организама у заштити животне средине. Узевши у обзир да је питање заштите животне средине једно од најактуелнијих питања данашњице, у овом раду презентовали смо поједине примере употребе генетски модификованих микроорганизама, генетски модификованих биљака и генетски модификованих животиња као потенцијалних решења овог горућег проблема. С обзиром да се у јавности последњих неколико година воде оштре полемике око даље примене технологије генетичког инжењерства, јасно је да смо далеко од коначне одлуке. Евидентно је да нас у даљим корацима мора водити опрез и анализа постојећих и будућих научних истраживања на тему безбедности ове технологије.

Кључне речи: генетски модификовани организми, животна средина, биоремедијација, биосензори

POSSIBILITY FOR APPLICATION OF GENETICALLY MODIFIED ORGANISMS IN PROTECTION OF ENVIRONMENT

ABSTRACT

Since its foundation in 1970s till today, technology of genetic engineering has opened long list of applications at first place in science, pharmaceuticals, medicine, and food production. Application of genetically modified organisms in these areas is one of the most actual questions of our time, on which we should give the answer in future. Out of all actual topics from this area we have dedicated least attention to potential application of genetically modified organism in protection of environment. Taking into account that question of protection of environment is one of the most important of our time, in this paper we have presented some examples of application of genetically modified microorganisms, genetically modified plants, and genetically modified animals as part of potential solution. Considering that further application of technology of genetic engineering raises controversy in public, it is obvious that our society is far from final decision. It is evident that our further steps should be considered with watchfulness and reflection of existing and further scientific research that regard safety of this technology.

Key words: genetically modified organisms, environment, bioremediation, biosensors

1. УВОД

Седамдесетих година двадесетог века нагло је дошло до развоја технологије која је омогућила једноставну манипулацију генетичким материјалом, најпре микроорганизама, а затим и биљака и животиња. Овим су отворене нове перспективе за биотехнологију и започела је ера стварања првих хибридних организама, односно организама са жељеним карактеристикама.

¹Висока здравствено-санитарна школа струковних студија ВИСАН, Београд, Србија

² Факултет за специјалну едукацију и рехабилитацију-Универзитет у Београду, Србија

Технологија рекомбиноване ДНК (дезоксирибонуклеинске киселине), или молекуларно клонирање, или генетичко инжењерство, представља групу техника које омогућавају да се секвенце ДНК (нпр. појединачни гени неког организма) умећу у друге саморепликујуће ДНК, у такозване векторе за клонирање. Убацивањем вектора за клонирање у одређену ћелију добија се хибридна ћелија коју је лако умножити, а свака новоумножена ћелија представља клон са истоветним хибридном молекулом ДНК који је пореклом из барем два различита организма. Овај је поступак први корак у експресији (експримирању) гена једне биолошке врсте у другој биолошкој врсти. По први пут комбиновање наследног материјала несродних и репродуктивно инкомпетентних организама постало је стварност. [1]

Описани процес молекуларног клонирања технички се може поделити у четири групе поступака [1]:

1. исецање жељеног сегмента ДНК (гена) из оригиналног ДНК молекула помоћу рестрикционих ензима
2. спајање исеченог сегмента ДНК са вектором помоћу другог ензима лигазе
3. уношење новокреираног рекомбинованог молекула ДНК у ћелију домаћина
4. идентификација ћелије домаћина са рекомбинованом ДНК, њена даља пропација и евентуална изолација рекомбиноване ДНК

Најпре у науци, а већ дуго низ година и у јавности појавио се појам “генетски модификовани организам” (ГМО). Уопштено говорећи, овај се термин односи се на било који организам чији је генетски материјал измењен техникама генетичког инжењеринга. Историјски гледано, први генетски модификовани организам створен је у Сан Франциску на Станфорд универзитету 1973 године. Користећи технике рекомбинантне ДНК добијена је бактерија *E. coli* са рекомбинантним плазмидом који садржи сопствени ген за резистенцију на антибиотик тетрациклин, али и ген за резистентност на антибиотик стрептомицин који је пореклом из друге бактеријске врсте, *Salmonella*. Новодобијена бактерија постала је резистентна на оба антибиотика, што је показало да се гени различитих биолошких врста могу експримирати у новонасталом хибридном организму. [1]

Сазнање да је могуће експримирати гене једне прокариотске бактеријске врсте у другој одмах је било праћено питањем да ли је могуће техникама рекомбинантне ДНК добити бактерију која би експримираше гене и производила протеине еукариотских ћелија, а у крајњој инстанци и хумане протеине? С обзиром да је хемијска структура ДНК прокариотских и еукариотских организама идентична, могуће је добити хибридне молекуле ДНК који се састоје од прокариотских и еукариотских делова. Овакав рекомбинантни молекул могуће је убацити у бактерију што ће резултирати стварањем генетски модификованог микроорганизама који садржи еукариотске гене. Наравно, убачени еукариотски ген ставља се под контролу регулаторних секвенци ДНК бактеријске ћелије. Коначно, добијена је генетски модификована бактеријска ћелија која производи еукариотске, па зашто не, и хумане протеине.

Након стварања оваквих генетски модификованих микроорганизама неминовно је даљим развојем технологије дошло до појаве генетски модификованих животиња. Под овим се појмом могу сматрати све животиње над којим је извршена било каква измена наследне основе техникама генетичког инжењерства. Измена наследне основе код животиња генерално је могуће убацивањем гена другог организма (трансгене животиње) или избацивањем из функције једног од постојећих гена (нокаут животиње).

Пракса манипулације геномом биљака, условно речено, стара је колико и сама пољопривредна производња. Генерално, код биљака се може вршити [1]:

1. манипулација комплетним хромозомским сетом
2. манипулација појединачним хромозомима
3. манипулација која проузрокује варијабилност генома

4. манипулација рекомбинованом ДНК

Предност коју у погледу манипулације наследном основном имају биљке над животињама огледа се у већој пластичности биљних генома, док се предност у култивацији односи на способност регенерације читаве биљке из једног дела ткива или само једне ћелије.

Генетске модификације су до сада извршене у живим организмима свих нивоа сложености, од најједноставнијих вируса, преко бактерија и квасаца, па све до биљака, животиња и хуманих ћелија.

Генетски модификовани организми најпре су коришћени као модели за изучавање генске експресије у науци. Њихова даља примена у сврху стварања организама који ће производити протеине интересантне за фармаколошку примену (на пример хормон инсулин) уследила је недуго затим. Отворила су се врата за њихову примену у медицини, технологији, производњи хране, производњи нових материјала за индустрију и сл. Могућа широка примена нове технологије у свакодневном животу и чињеница да се ради о креирању нових у природи непознатих организама, неизбежно је отворила питања безбедности овакве технологије, али и бројне етичке дилеме. Примена ГМО организама једно је од најактуелнијих питања данашњице на које тек треба да се дефинишу одговори. Чини се да је од свих актуелних тема из овог домена најмање пажње посвећено потенцијалној примени генетски модификованих организама у заштити животне средине. Знајући да је питање заштите животне средине такође једно од најактуелнијих питања данашњице покушаћемо да дискутујемо потенцијалну примену ГМО организама као једно од могућих решења.

2. МОГУЋНОСТИ ПРИМЕНЕ ГЕНЕТСКИ МОДИФИКОВАНИХ МИКРООРГАНИЗАМА У ЗАШТИТИ ЖИВОТНЕ СРЕДИНЕ

Животна средина карактерише се постојањем извесних биолошких механизма који јој омогућују самоодржавање, односно опоравак након загађења, деградације или контаминације штодљивим материјама. Процес деградације контаминирајућих материја у коме учествују микроорганизми назива се биоремедијација. Микроорганизми у биоремедијацији користе контаминате као извор хране, при чему их могу у потпуности или делимично метаболизовати. Приликом потпуног метаболисања опасних материја типично долази да разградње до основних једињења као што су угљен диоксид и вода. У случају делимичне разградње опасно једињење бива хемијски модификовано или имобилисано до облика који је нетоксичан.

Биоремедијација се може користити као релативно једноставан, ефикасан и економичан начин да се елиминишу штодљиве и отровне материје из животне средине. Број органских и неорганских једињења која могу бити трансформисана или разграђена захваљујући раду микроорганизма је прилично велики. Међу ова једињења спадају и нитрати, арсеник, перхлорати, олово, жива, нафтни деривати, па чак и радионуклиди. Биоремедијација је и једини познати начин елиминације из животне средине за многе од ових једињења. Перхлорат је, на пример, контаминант површинских вода који је отпоран на конвенционалне хемијске и физичке методе пречишавања вода, али је подложен деградацији под дејством одређених сојева бактерија. [1]

Као широко примењен пример коришћења постојећих природних сојева бактерија у уклањању контаминирајућих једињења из животне средине може се навести уклањање изливене нафте и нафтних деривата. Физичке технике за уклањање нафте након инцидента јесу брзе, али су и недовољно ефикасне за поново успостављање биоценозе на контаминираним подручју. Најефикаснији и најприхвативљиви начин за ремедијацију воде и земљишта контаминираних нафтним дериватима јесте деградација овог органског материјала

под дејством бактерија до безбедног угљен диоксида и воде. Овај поступак није најбржи, али јесте најделотворнији начин за решавање описаног проблема.

Као највећу предност биоремедијације потребно је истаћи да је то природан процес који се може примењивати по цени значајно мањој од других постојећих физичких и хемијских технологија. Као велики недостатак процеса биоремедијације наводи се пре свега да је питању спор процес, који у условима примене постојећих природних сојева микроорганизама често не доводи до потпуног уклањања контаминирајућих материја до потпуно нешкодљивих облика. Појава технологије генетичког инжењерства отворила је могућност за креирање микроорганизама који би процес биоремедијације унапредили.

2.1. Генетски модификовани микроорганизми који разлажу органске или инактивирају неорганске загађиваче

Данас постоје две класе генетски модификованих микроорганизама дизајнираних за примену у биоремедијацији животне средине :

1. Генетски модификовани микроорганизми који разлажу органске загађиваче
2. Генетски модификовани микроорганизми који акумулирају или инактивирају металне загађиваче

Генетски модификоване бактерије далеко су ефикасније у разградњи органских загађивача од природних сојева бактерија. Унапређење ефикасности њиховог деловања могуће је постићи модификацијом самог метаболичког пута одговорног за разградњу токсичне материје. На пример, метаболички пут лоциран на TOL плазмиду *Pseudomonas putida* модификован је тако да му је повећан каталитички капацитет променом регулаторног гена *XylS*. Један број манипулација метаболичког пута односи се на интервенцију Cytochrome P450s, ензима укљученог у велики број хемијских реакција у микроорганизмима који су од значаја за разградњу органских загађивача. Могућа је и модификација метаболичког пута тако да се омогући промена специфичности ензима за супстрат што ће даље омогућити генетски модификованој бактерији да разгради много шири спектар загађивача. Постојеће форме генетски модификованих бактерија у стању су да разграде ароматична једињења, као што су бензен и толуен, као и бројна хлоринисана једињења, међу њима и она која улазе у састав пластичних маса. [2]

Унапређење процеса биоремедијације употребом генетичког инжењеринга односи се и на конструкцију ГМ микроорганизама способних да разграде токсична једињења управо на месту контаминације. На пример, биодеградација се типично најбрже одиграва под аеробним условима, међутим, кисеоник није увек доступан, поготово у случају под-површинског загађења. Бројне активности генетичког инжењеринга усмерене су ка креирању микроорганизама који могу да жељену активност обаве у постојећим анаеробним условима. Најчешће се контаминација животне средине одиграва са више од једног загађивача. Не ретко то је мешавина органских и неорганских једињења, тако да је неопходно дизајнирати микроорганизам који мора бити способан да преживи неповољне услове и разложи полутант на месту контаминације. Проблем се решава дизајнирањем рекомбинантних сојева микроорганизама са жељеном комбинацијом гена за резистентност на токсичност одређених једињења и гена за деградацију других типова присутних једињења.

Неоргански полутанти као што је нпр. жива, не могу бити разграђени до угљен диоксида и воде за разлику од органских загађивача, што даље онемогућава њихову елиминацију из контаминираниог подручја. Стратегије за елиминацију ових загађивача се сведе на следеће могуће правце:

- трансформација полутаната у нетоксичну форму (биотрансформација)

- таложење металних јона на површини ћелије (биопреципитација)
- увлачење металних јона и складиштење у унутрашњости ћелије (биосорпција)

Биоремедијација живе представља област у коју је до сада уложено највише рада што се тиче конструкције генетски модификованих организама за примену у заштити животне средине. Жива је високо токсичан тешки метал који представља озбиљан еколошки проблем јер се у метилисаном облику акумулира у воденим животињама и кроз ланац исхране лако долази и до људи. Убацавање *merA* гена у бактерије као што је *E. coli* омогућава бактерији да трансформише живу у облик који не може бити метилисан и акумулиран у рибама.

Познат је и пример *E. coli* модификоване тако да на површини ћелије експримира велику количину полихистидинских пептида који везују метале, што овом конструкту омогућава везивање и до 6 пута више јона цинка, гвожђа и никла. Овако наталожени метали још увек су присутни у животној средини, те је по окончању процеса таложења метала неопходно елиминисати бактерије које су их акумулирале по својој површини.

2.2. Генетски модификовани микроорганизми као биосензори за детекцију загађења

Примена биосензора у заштити животне средине заснована је на феномену да поједине биолошке врсте експримирају у посебним условима спољашње средине протеине који дају извесну обојеност која је лако уочљива. Креирање биосензора технологијом генетичког инжењерства базира се на убацавању у микроорганизам такозваних индикаторских гена који се у присуству контаминирајуће супстанце експримирају и дају протеин који је лако детектабилан сигнал. Као индикатор ген најчешће се користи луцифераза инсекта свица (*lux* ген), протеин који овим јединкама омогућава да светле у мраку [3]. Још један широко коришћени индикатор је ген за зелени флуоресцирајући протеин - *green fluorescent protein (GFP)* који се природно експримира код неких врста медуза, а под ултраљубичастим светлом флуоресцира зелено. Дизајнирани су генски конструкти који различите индикаторске гене стављају под контролу разноврсних промотора. Тако је на пример за потребе дизајнирања биосензора, *lux* ген стављен под контролу промотора који се активирају у присуству различитих токсичних материја [3]. Направљени су конструкти који се активирају у присуству загађивача попут арсеника, живе, кадмијума итд. [4] Количина луминисценције, односно емитованог светла, у оваквим ГМО системима пропорционална је количини присутног полутанта, тако да је могуће извршити квалитативну и квантитативну анализу постојећег загађења животне средине.

Microtox систем, који је комерцијално већ и прихваћен као технологија за детекцију токсичних материја у животној средини, заснован је такође на примени ГМО микроорганизма као биосензора [5]. Разлика је у томе да се за ову потребу трансгени индикатор ген експримира у живој бактеријског ћелији под контролом промотора који је увек активан у ћелији. Практично то значи да ће трансгена бактерија светлцати флуоресцентном бојом без обзира на присуство или одсуство појединих егзогених супстанци. Евентуално присуство неке токсичне супстанце смањиће вијабилитет ових бактерија, а тиме и ниво луминисценције бактеријске културе, што је индикатор загађења.

3. МОГУЋНОСТИ ПРИМЕНЕ ГЕНЕТСКИ МОДИФИКОВАНИХ БИЉАКА У ЗАШТИТИ ЖИВОТНЕ СРЕДИНЕ

Фиторемедијација је процес који остварују биљке способне да врше чишћење земљишта, воде и ваздуха након еколошких акцидената. Заснована је на употреби специјално селектованих постојећих врста биљака или биљака које су резултат интервенције технологијом генетичког инжењерства.

Генетски модификоване биљке преобладајуће су развијане за третман неорганских металних загађивача животне средине. Како се метали не могу разградити попут органских

загађивача до једноставних нешкодљивих продуката, процес фиторемедијације захтева акумулацију оваквих једињења метала у биљци, а затим уклањање биљке из животне средине. Предност примене овако конструисаних биљака у односу на претходно описане микроорганизме је у њиховој једноставнијој и јефтинијој елиминацији из животне средине.

Процес конструкције генетски модификоване биљке за примену у фиторемедијацији започиње идентификацијом биљке која може да толерише присуство контаминанта у својој средини, а затим повећањем њеног капацитет за акумулацију токсичне материје. Најбољи практични резултати добијени су када су биљкама које природно расту на загађеном земљишту технологијом рекомбинантне ДНК убачени гени из бактерија који поспешују акумулацију метала или њихово превођење у мање опасне облике. Пример за овакав поступак је *Arabidopsis* у коју је убачен сет гена из грам негативних бактерија који имају улогу у детоксикацији живе [6]. Арабидопсис је коровска биљка која расте у широком спектру еколошких услова и често се користи као лабораторијски модел систем. Убацивање MerV гена из бактерије даје способност овом корову да конвертује метилживу (снажни неуротоксин) до јонског облика живе. Инсертовањем MerA гена редукује се јонски облик живе у основну, неактивну форму. Даљим укрштањем новостворених MerA и MerV трансгених арабидопсиса добијају се двоструко трансгене биљке које имају високу толеранцију на живу и велики капацитет да изврше фиторемедијацију средине контаминираним живом. Трансгени систем MerA/MerV убачен је и у неке од мочварских биљака и биљака које толеришу воду (врба) са циљем примене фиторемедијације на подручјима са водом загађеном живом [1].

4. МОГУЋНОСТИ ПРИМЕНЕ ГЕНЕТСКИ МОДИФИКОВАНИХ ЖИВОТИЊА У ЗАШТИТИ ЖИВОТНЕ СРЕДИНЕ

Највећи изазов у конструкцији и примени генетски модификованих организама у заштити животне средине представљају генетски модификоване животиње. Основни разлог је сложеност употребе технологије генетичког инжењерства на животињским моделима, а други је разлог у контраверзама које у јавности изазива појава било које трансгене животиње. До 2012-те године веровало се да је у процедури за комерцијалну употребу код америчке FDA (Агенција за контролу хране и лекова) највеће кораке направио патент AquAdvantage® Salmon (трансгени лосос са геном за контролу раста), а одмах за њим Enviropig, генетски модификована јоркширска свиња са способношћу ефикасније дигестије фосфора из биљних извора [7]. Новембра 2015 године AquAdvantage® Salmon је добила коначну дозволу за употребу, док је пројекат Enviropig обустављен 2012 због повлачења финансијера.

Enviropig је генетски модификована јоркширска свиња која у пљувачци секретује ензим фитазу [8]. Фитаза помешана са житарицама којима се свиње хране доспева до желуца у чијој киселој средини разграђује иначе несварљиву фитичну киселину присутну у житарицама (садржи око 50-70% укупног фосфора из житарица) до облика које свиње могу да варе. На овај начин се избегава додавање фосфора у храну за свиње, јер су овакве животиње у стању да га користе из биљака. Још важније је да екскрети свиња више не садрже велику количину једињења која имају фосфор, што у областима са великим фармама свиња представља огроман проблем у смислу загађења животне средине. Посебно је велики проблем контаминације воде фосфорним једињењима из фецеса свиња, јер се у њиховом присуству развијају алге које доводе до угинућа рибе. Смањење контаминације околине фосфором је разлог што су ове ГМ свиње добиле назив Enviropig, односно *environment-friendly pig*. Како је 20102 године обустављено даље финансирање пројекта развоја ових свиња, престало је њихово даље гајење, а њихов је генетски материјал замрзнут ради евентуалног поновног оживљавања пројекта.

5. ЗАКЉУЧАК

Несумњиво да је појава технологије генетичког инжењерства отворила ново поглавље у биотехнологији са до скоро незамисливим могућностима. Чињеница је и да је мало савремених научно-технолошких достигнућа која су попут овог побудила у јавности тако много контраверзи. Научна јавност, јавно мњење, религиозне заједнице и законодавство добили су огроман изазов у покушају да дају одговоре на питања попут: колико је ова технологија безбедна, да ли је морално исправна, има ли неко право да патентира наследну основу...? И док је јавност прилично узнемирена питањем безбедности употребе ГМО хране, ретко ко поставља питање безбедности употребе лекова добијених из ГМО организама који су у употреби већ скоро тридесет година. Много мање пажње у сваком погледу поклања се примени технологије генетичког инжењерства у заштити животне средине. Чини се да је јавно мњење највише преокупирано питањем безбедности ГМО хране, а затим питањима безбедности ове технологије за остали живи свет и екосистем.

Јасно је да ће у будућности питање заштите животне средине моћи да буде решено употребом савремене биотехнологије. Да ли је технологија генетичког инжењерства део тог решења? У овом тренутку тешко је дати одговор на ово питање. У овом раду презентовани примери употребе ГМО организама у заштити животне средине показали су се у много чему супериорнијим у односу на конвенционалне технологије засноване на примени механичких, физичких и хемијских техника. Оно што спречава њихову примену је непознаница како ће се новокреиране врсте уклопити у постојеће екосистеме? Може ли њихова појава у природи да угрози постојање других биолошких врста, можда на крају и самог човека? Вероватно да ће најпре бити примењени ГМО микроорганизми у затвореним реакторима у којима ће се вршити пречишћавање ограничених количина воде, земље и ваздуха. Опрез и детаљне анализе су, надамо се, оно што ће човечанство водити кроз даље одлуке.

6. ЛИТЕРАТУРА

- [1] Т. Маринковић, Д. Маринковић. Принципи савремене биотехнологије, ВЗСШ Висан, Београд, 2012.
- [2] F. Menn, J.P. Easter, G.S. Sayler, *Genetically Engineered Microorganisms and Bioremediation*, Biotechnology vol 11b, by WILEY-VCH, 2000.
- [3] S.E. Lindow, The use of reporter genes in the study of microbial ecology. *Mol. Ecol.*, 4(1995):555-566,
- [4] H. Strosnider, *Whole-Cell Bacterial Biosensors and the Detection of Bioavailable Arsenic*, Report for National Network of Environmental Management Studies, 2003.
- [5] J.C. Chang, A.B. Taylor, F.R. Leach, Use of the Microtox assay system for environmental samples. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 26(1981): 150-156.
- [6] S.P. Bizily, C.L. Rugh, A.O. Summers, R.B. Meagher, Phytoremediation of methylmercury pollution: *merB* expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 96(12) (1999):6808–6813.
- [7] H.M. Zbikowska, Fish can be first-advances in fish transgenesis for commercial applications. *Trans. Res.* 12(2003): 379-389.
- [8] S.P. Golovan, R.G. Meidinger, A. Ajakaiye, M. Cottrill, M.Z. Wiederkehr, D.J. Barney, C. Plante, J.W. Pollard, M.Z. Fan, M.A. Hayes, J. Laursen, J.P. Hjorth, R.R. Hacker, J.P. Phillips, and C.W. Forsberg, Pigs expressing salivary phytase produce low phosphorus manure. *Nat Biotechnol* 19(2001): 741-745.

Информације о ауторима

Татјана Маринковић; директор школе; Висока здравствено-санитарна школа струковних студија ВИСАН, Тошин бунар 7а, 11080 Београд-Земун, Србија; доктор наука; професор струковних студија, тел 011/307 6472, мејл: tatjana.marinkovic@hotmail.com

Марко Војводић; Висока здравствено-санитарна школа струковних студија ВИСАН, Тошин бунар 7а, 11080 Београд-Земун, Србија; доктор наука; професор струковних студија, тел 011/307 6472, мејл: bigmatche@yahoo.com

Драган Маринковић; Факултет за специјалну едукацију и рехабилитацију-Универзитет у Београду, Високог Стевана 2, 11000 Београд, Србија; доктор наука; ванредни професор, тел 064/503 9764, мејл: dragan.marinkovic@hotmail.com

Authors

Tatjana Marinkovic; Dean; Sanitary Medical School of Applied Sciences VISAN, Tosin bunar 7a, 11080 Belgrade-Zemun, Serbia; PhD; professor of applied sciences, tel 011/307 6472, mail: tatjana.marinkovic@hotmail.com

Марко Војводић; Sanitary Medical School of Applied Sciences VISAN, Tosin bunar 7a, 11080 Belgrade-Zemun, Serbia; PhD; professor of applied sciences, tel 011/307 6472, mail: bigmatche@yahoo.com

Dragan Marinkovic; Faculty for Special Education and Rehabilitation-University of Belgrade, Visokog Stevana street 2, 11000 Belgrade, Serbia; PhD; Associate Professor, tel 064/503 9764, mail: dragan.marinkovic@hotmail.com