

Bilten

Udruženja genetičara u Bosni i Hercegovini

Br. 24 | Januar, 2025.



Izdavač

Udruženje genetičara u Bosni i Hercegovini (GENuBiH)

Urednik

Prof. dr. **Sanin Haverić**, naučni savjetnik,
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Urednički odbor

Akademik **Rifat Hadžiselimović**, naučni
savjetnik, Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Stojko Vidović**, Medicinski fakultet,
Univerzitet u Banjoj Luci

Prof. dr. **Kasim Bajrović**, naučni savjetnik,
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Narisl Pojskić**, naučni savjetnik,
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Lejla Pojskić**, naučni savjetnik,
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Jasmina Čakar**, naučni savjetnik,
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Adaleta Durmić Pašić**, naučni
savjetnik, Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Anja Haverić**, naučni savjetnik,
Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Doc. dr. **Naida Lojo Kadrić**, viši naučni
saradnik, Institut za genetičko inženjerstvo i
biotehnologiju, Univerzitet u Sarajevu

Dr. **Maida Hadžić**, naučni saradnik, Institut za
genetičko inženjerstvo i biotehnologiju,
Univerzitet u Sarajevu

Dr. **Amela Pilav**, naučni saradnik, Institut za
genetičko inženjerstvo i biotehnologiju,
Univerzitet u Sarajevu

Dr. **Anesa Ahatović**, naučni saradnik, Institut
za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju,
Univerzitet u Sarajevu

Dr. **Amra Kazić**, naučni saradnik, Institut za
genetičko inženjerstvo i biotehnologiju,
Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Semina Hadžiabulić**,
Agromediterski fakultet, Univerzitet
Džemal Bijedić

Prof. dr. **Lada Lukic Bilela**, Prirodno-
matematički fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Izet Eminović**, Prirodno-matematički
fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Emina Kiseljaković**, Medicinski
fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Doc. dr. **Mirela Mačkić Đurović**, Medicinski
fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Dr. **Lejla Alić**, dr. med. sci, Medicinski
fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Dunja Rukavina**, Veterinarski
fakultet, Univerzitet u Sarajevu

Prof. dr. **Azra Skender**, Biotehnički fakultet,
Univerzitet u Bihaću

Doc. dr. **Marija Vuković**, Univerzitetski
klinički centar Republike Srpske, Banja Luka

Naslovna stranica: Najava Četvrtog kongresa genetičara u Bosni i Hercegovini, **Mujo Hasanović**

URL: <http://www.genubih.ba/bilten/>

ISSN 2566-2899

SADRŽAJ

Najava Četvrtog kongresa genetičara u Bosni i Hercegovini sa međunarodnim učešćem	4
Ćelijska smrt: najpoznatiji tipovi i njihov značaj kao regulatora fizioloških i patoloških stanja.....	6
Od 3R do 10R: Unapređenje principa humane upotrebe životinja u naučnim istraživanjima	12
Umjetna inteligencija u predviđanju antimikrobne rezistencije	17
Bojenje tkanina genetički modificiranim mikroorganizmima*	24
Bruce Ames (1928 – 2024) – kreator Ames testa	29
Najave konferencija	33

Najava Četvrtog kongresa genetičara u Bosni i Hercegovini sa međunarodnim učešćem

Irma Durmišević^{1,2}, Anja Haverić^{1,2}

¹ Univerzitet u Sarajevu - Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

² Udrženje genetičara u Bosni i Hercegovini, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

I ove godine, prva sedmica oktobra, od 2. do 4. oktobra, bit će posvećena Četvrtom kongresu genetičara u Bosni i Hercegovini sa međunarodnim učešćem. Po prvi put, ovaj značajni događaj će se održati u Banja Luci - gradu koji je savršen spoj historije, prirode i avanture. Sa prelijepom rijekom Vrbas, bogatim kulturnim naslijeđem i živahnim gradskim duhom, ovaj grad nudi nešto za svakoga. Kongres će biti održan u savremenim prostorijama hotela Bosna koje pružaju idealan ambijent za naučnu razmjenu i povezivanje.

I ovogodišnji Kongres predstavlja jedinstvenu priliku za okupljanje stručnjaka iz različitih oblasti genetike, biologije, bioinženjerstva i drugih srodnih naučnih disciplina radi razmjene najnovijih istraživanja, ideja i otkrića. Kao i prethodnih godina, očekuje se da će Kongres pružiti platformu za predstavljanje inovativnih rješenja i pokretanje saradnje među domaćim i međunarodnim stručnjacima.

Udruženje genetičara u Bosni i Hercegovini, u saradnji s Organizacijskim odborom, posvetilo je posebnu pažnju unapređenju ovogodišnjeg Kongresa, s

ciljem kreiranja izuzetno bogatog i kvalitetnog naučnog programa koji će ispuniti očekivanja svih učesnika. Registracija učesnika će biti otvorena od 15.2. do 15.8.2025. preko zvanične stranice (www.congubih.ba).

Kongresni program uključit će prezentacije iz pet ključnih oblasti genetike:

- humana i medicinska genetika,
- forenzička genetika,
- biomonitoring i toksikologija,
- bioinženjerstvo, biotehnologija i bioinformatika,
- genetika prirodnih resursa.

Program će biti izuzetno bogat i raznovrstan, obuhvatajući predavanja iz širokog spektra oblasti genetike i srodnih nauka. Eminentni predavači, priznati stručnjaci iz zemlje i inostranstva, podijelit će svoja najnovija istraživanja, inovativne ideje i ekspertizu, čineći ovaj Kongres izvanrednom platformom za sticanje novih saznanja i inspiraciju za daljnja istraživanja.

Sažeci svih oralnih i poster prezentacija, uključujući izlaganja pozvanih predavača, bit

će objavljeni u naučnom časopisu Instituta za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju (INGEB) Genetics and Application. Knjiga apstrakata će biti dostupna i u digitalnom formatu na zvaničnoj web stranici časopisa, kao i na službenoj stranici Kongresa, omogućavajući širokoj publici uvid u najnovija naučna dostignuća predstavljena na ovom značajnom događaju.

Vjerujemo da će Četvrti kongres genetičara u Bosni i Hercegovini biti izvanredna prilika za unapređenje naučne saradnje, sticanje novih znanja i uspostavljanje mreža koje će oblikovati budućnost genetike, kako u regionu tako i na globalnom nivou.

Dobrodošli u Banja Luku!



Ćelijska smrt: najpoznatiji tipovi i njihov značaj kao regulatora fizioloških i patoloških stanja

Selma Ćurovac¹, Maida Hadžić Omanović^{1,2}

¹ Udruženje genetičara u Bosni i Hercegovini, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

² Univerzitet u Sarajevu - Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Smrt predstavlja neizbjegjan ishod za sve žive organizme, kako na nivou cijelog organizma, tako i na ćelijskom nivou. Nekada se smatralo da je ćelijska smrt isključivo nepoželjan, ali neizbjegjan rezultat disfunkcionalnosti ćelija, pri čemu je oštećenje neminovno pokretalo inflamatorne (upalne) reakcije. Ipak, istraživanja sprovedena tokom poslednjih decenija otkrila su različite oblike ćelijske smrti koji su genski regulisani s ciljem uklanjanja nepotrebnih ili teško oštećenih ćelija koje bi mogle štetiti okolnom tkivu. Stoga ćelijska smrt predstavlja prirodan i ključan proces za pravilan razvoj organizma, očuvanje zdravlja tkiva i regulisanje brojnih fizioloških funkcija (Park *et al.*, 2023; Haverić *et al.*, 2024). Razumijevanje različitih tipova ćelijske smrti i njihovih regulatornih mehanizama je ključno za procjenu patogeneze različitih bolesti, kao što su rak, neurodegenerativne bolesti i autoimuni poremećaji (Lowe & Lin, 2000; Kroemer *et al.*, 2013).

Klasifikacija ćelijske smrti

Nomenklturni komitet za ćelijsku smrt (engl. *Nomenclature Committee on Cell*

Death, NCCD) 2018. godine objavio je sveobuhvatne smjerice koje su značajno unaprijedile razumijevanje puteva ćelijske smrti i metoda koje se najčešće koriste u njihovom istraživanju. Ove smjernice istakle su važnost preciznog definisanja i razlikovanja različitih tipova ćelijske smrti, uz naglasak na ključne molekularne puteve, genetičke faktore, biohemijske markere i funkcionalne parametre (Galluzzi *et al.*, 2018; Park *et al.*, 2023).

Morfološke karakteristike su primarna osnova za tradicionalnu klasifikaciju ćelijske smrti. Među njima najpoznatije su apoptoza, nekroza, autofagija, lizosomalna ćelijska smrt i feroptoza, koje se svrstavaju u kategoriju programirane ćelijske smrti, dok piroptoza, nekroptoza i NEToza pripadaju grupi inflamatornih oblika ćelijske smrti (Park *et al.*, 2023).

Tradicionalno, ćelijska smrt se klasificuje na slučajnu ćelijsku smrt (engl. *accidental cell death*, ACD) ili regulisanu ćelijsku smrt (engl. *regulated cell death*, RCD). ACD je nekontrolisani biološki proces, dok RCD uključuje signalnu kaskadu u kojoj učestvuju efektorske molekule. Među njima, RCD je

također poznata kao programirana ćelijska smrt (engl. *programmed cell death*, PCD), koja se javlja pod fiziološkim terminima. Do sada su se istraživanja uglavnom fokusirala na apoptozu, nekrozu, autofagiju i lozosomalnu ćelijsku smrt, koje sve pripadaju programiranoj ćelijskoj smrti (PCD).

Apoptoza

Apoptoza predstavlja organizovano razlaganje ćelija kao odgovor na specifične signale (Thompson, 1995). Sam termin potiče iz grčkog jezika, gdje riječ "apo" označava "list", a "ptosis" znači "otпадanje", čime se metaforično opisuje proces kontrolisanog ćelijskog samouništenja i njihovog odvajanja od okolnog tkiva (Kerr *et al.*, 1972). Kada dođe do oštećenja genetičkog materijala, ćelije odgovaraju aktivacijom složenih mehanizama za popravku DNK ili pokretanjem procesa programirane ćelijske smrti – apoptoze. Budući da je apoptoza strogo regulisan proces u kojem ćelija sama aktivno učestvuje, često se opisuje kao oblik ćelijskog samouništenja ili samoubistva. Apoptozi je prvi opisao njemački naučnik Carl Vogt 1842. godine, dok je 1972. godine australski patolog John Kerr ponovo definisao i uveo naziv "apoptoza" (Haverić *et al.*, 2018; Peter *et al.*, 1997).

Apoptoza je karakterizirana skupljanjem ćelija, kondenzacijom hromatina i fragmentacijom u mala apoptozička tijela vezana za membranu, koja fagocitiraju susjedne parenhimske ćelije, neoplastične ćelije ili makrofage (Park *et al.*, 2023).

Biomarkeri apoptoze uključuju različite promjene, a to su: morfološke promjene (poput kondenzacije hromatina, fragmentiranje nukleusa u manje, loptaste strukture, formiranja apoptozičnih tijela, disolucija nukleusa); fragmentacija DNK; aktivacija specifičnih apoptozičnih enzima i proteina; promjene u ekspresiji proteina povezanih s apoptozom, kao što su BCL-2 (antiapoptozni) i BAX (proapoptozni) proteini (Haverić *et al.*, 2024).

Apoptoza je neophodna za normalno funkcionisanje organizma. Tokom embrionalnog razvoja, omogućava uklanjanje nepotrebnih ćelija i pravilno oblikovanje tkiva. Uloga u homeostazi tkiva ogleda se u održavanju ravnoteže ćelijskog prometa, dok u imunom odgovoru apoptoza eliminiše aktivirane imune ćelije nakon infekcije, čime se sprječava autoimunost. S druge strane disregulacija apoptoze povezana je s razvojem različitih bolesti. U raku, otpornost ćelija tumora na apoptozi omogućava njihov opstanak i rast. U neurodegenerativnim bolestima, poput Alchajmerove bolesti, prekomjerna apoptoza doprinosi gubitku neurona. Također, kod autoimunih poremećaja, oslabljena apoptoza dovodi do preživljavanja autoreaktivnih limfocita, što može rezultirati autoimunim reakcijama (Barheloot *et al.*, 2021; Proteintech Group, n.d.; Kashyap & Reddy, 2019).

Nekroza

Dok apoptoza predstavlja genski regulisan i kontroliran proces ćelijske smrti koji dovodi do fragmentacije ćelije i njenog

uklanjanja od strane fagocitnih ćelija, nekroza predstavlja nekontrolirani proces uzrokovani vanjskim podražajima, koji rezultira rupturom ćelijske membrane i izaziva upalu (Park *et al.*, 2023).

Nekroza je nekontrolirani oblik ćelijske smrti koji se pokreće kao odgovor na ozljedu, traumu ili infekciju (Golstein & Kroemer, 2007). Izraz "nekroza" dolazi od grčkih riječi "*nekros*", što znači mrtav ili leš, i "*osis*", što znači proces, a posebno se odnosi na destrukciju i degeneraciju (Zong & Thompson, 2006).

Nejasno je ko je prvo bitno formulisao termin nekroza, ali najranije spominjanje nekroze nedavno pronađeno na PubMed-u je „Opažanje nekroze“ koje je napisao Bousselin, hirurg u poljskoj vojsci, 1786. (Bousselin, 1786). U literaturi, nekroza se odnosi na nekrozu tkiva uzrokovana infekcijom i upalom, a ne smrću ćelije. Rudolf Virchow je bio prvi naučnik koji je upotrijebio termin nekroza na ćelijskom nivou. On je definisao nekrozu na ćelijskom nivou kao „umrtvljena ćelija je ostavljena u svom spoljašnjem obliku“ i „nekrobioza ili nekroza skupljanja gde ćelija nestaje i više se ne može vidjeti u svom sadašnjem obliku“ (Park *et al.*, 2023).

Biomarkeri nekroze su: povećanje propustljivosti membrane; oticanje ćelije i gubitak njene strukture; povećanje aktivnosti enzima, poput laktat dehidrogenaze (LDH), koji se oslobađa iz oštećenih ćelija; upalni odgovor u okolnom tkivu (Haverić *et al.*, 2024).

Iako se nekroza često povezuje s patološkim stanjima, regulirana nekroza ima značajne fiziološke funkcije. Na primjer, u odbrani organizma, potiče upalne procese koji pomažu u borbi protiv infekcija. Također, u popravku tkiva, nekroza doprinosi zacjeljivanju rana posredstvom upalnih reakcija. Međutim, nekroza se najčešće javlja u kontekstu patoloških stanja. Kod ishemija, dolazi do smrti ćelija uslijed nedovoljne opskrbe krvaju. S druge strane, toksične promjene nastaju zbog djelovanja hemikalija ili patogena koji narušavaju ćelijske odbrambene mehanizme (Barheloot *et al.*, 2021; Proteintech Group, n.d.; Kashyap & Zhang *et al.*, 2022).

Autofagija

Autofagična ćelijska smrt, također poznata kao ćelijska smrt tipa 2, nastaje kao rezultat aktivacije puta autofagije (Galluzzi *et al.*, 2017). Autofagija je ćelijski proces u kojem se citoplazmatske komponente, uključujući organele i makromolekule, izdvajaju u autofagosome sa dvostrukom membranom i ciljaju na lizosomsku degradaciju. Termin "autofagija" dolazi od grčkih riječi "*auto*", što znači sopstvo i "*phagy*", što znači jedenje ili proždiranje, i opisuje proces kojim ćelije razgrađuju i recikliraju svoje komponente (Klionsky, 2007). Termin "autofagija" koristi se od sredine 19. vijeka, ali Christian de Duve je 1963. definisao riječ kako se trenutno koristi na osnovu svog istraživanja o lizosomskim funkcijama. Mehanizmi koji su u osnovi autofagije zaključeni su 1990-ih,

identifikacijom gena povezanih s autofagijom od strane Yoshinorija Ohsumija. Autofagičnu smrt ćelije prvi je opisao Timo J. Nevalainen 1975. godine (Park *et al.*, 2023).

Proces autofagije započinje formiranjem fagofora (dvostruko-membranske strukture), koji širenjem zahvataju okolnu citoplazmu te se formiraju autofagosomi (zatvorene vezikule bez hidrolitskih enzima). Autofagosomi se zatim spajaju sa lizosomima, formirajući autolizosome u kojima se vrši digestija njihovih sadržaja. Autofagijom se uklanaju dugovječni proteini, veliki makromolekulski kompleksi i oštećene ili ostarjele ogranele. Također, autofagijom se, kao ključnim ćelijskim procesom, uklanaju mikroorganizmi (ksenofagija) i njihovi toksični proteinski agregati nakon infekcija (Haverić *et al.*, 2018). Bitno je napomenuti da proces autofagija igra ključnu ulogu u prevenciji prehrambenog, metaboličkog i infekcijom posredovanog stresa. Iako je u regulaciji procesa autofagije uključeno mnogo gena i metaboličkih puteva, 15 gena se smatra esencijalnim za aktivaciju autofagije u eukariotskim ćelijama. Ti geni su označeni kao autofagni geni 1-15 (APG1-15). Njena disfunkcija može dovesti do različitih patoloških stanja, poput progresije tumora, hipervirulencije patogena i neurodegeneracije (Haverić *et al.*, 2018; Haverić *et al.*, 2024).

Lizosomalna ćelijska smrt

Smrt lizosomalnih ćelija rezultat je permeabilizacije lizosomske membrane, što

dovodi do oslobođanja lizosomalnih enzima u citoplazmu i aktivacije puteva ćelijske smrti. Koncept lizosomalne ćelijske smrti prvi je predložio Christian de Duve krajem 1990-ih. Lizosomi, organele koje sadrže hidrolaze neophodne za razgradnju unutarćelijskog i vanćelijskog materijala, u normalnim fiziološkim uvjetima igraju ključnu ulogu u održavanju ćelijske homeostaze. Međutim, oštećenje lizosomalne membrane uzrokuje oslobođanje hidrolaza u citoplazmu, što pokreće različite puteve ćelijske smrti.

Smrt lizosomalnih ćelija može biti izazvana različitim faktorima, uključujući promjene pH unutar lizosoma, oksidativni stres i djelovanje lizosomotropnih sredstava. Ovaj proces povezan je s različitim patološkim stanjima, poput neurodegenerativnih bolesti, raka i poremećaja povezanih sa starenjem, dok inhibicija lizosomske ćelijske smrti može predstavljati terapeutski potencijal za liječenje ovih bolesti (Park *et al.*, 2023). Ipak, mnogi autori navode kako su potrebna dalja istraživanja kako bi se u potpunosti razjasnili mehanizmi koji stoje u osnovi ovog tipa ćelijske smrti i njegova uloga u patološkim stanjima.

Feroptoza

Feroptoza je oblik programirane ćelijske smrti ovisan o željezu koji uključuje nakupljanje lipidnih peroksida i oksidativni stres koji dovodi do oštećenja membrane. Feroptozu je prvi opisao 2012. godine istraživački tim predvođen Brentom Stockwellom (Dixon *et al.*, 2012). Naziv

feroptoza dolazi od latinske riječi "ferrum", što znači željezo, i grčke riječi "ptosis", što znači padanje, što se zajedno odnosi na proces propadanja ćelije ovisan o željezu (Li *et al.*, 2020).

Feroptoza je regulirana različitim putevima koji uključuju metabolizam željeza, aminokiselina i polinezasičenih masnih kiselina. Smatra se da feroptoza igra ulogu u različitim fiziološkim procesima, uključujući ishemiju, rak i neurodegeneraciju. Razumijevanje mehanizama feroptoze ima potencijalne terapijske implikacije, posebno u liječenju

karcinoma i rješavanju degenerativnih bolesti (Yan *et al.*, 2021; Stockwell *et al.*, 2017).

Novi tipovi ćelijske smrti

Osim prethodno opisanih i poznatih oblika ćelijske smrti, u skorije vrijeme otkriven je čitav niz novih tipova, kao što su mitoptoza, paraptoza, imunogena ćelijska smrt, entoza, metuoza, autoza, alkaliptoza, okseiptoza, kupprotoza i ereboza. Ova otkrića značajno su doprinijela boljem razumijevanju složenosti procesa ćelijske smrti (Park *et al.*, 2023).

Literatura

- Bertheloot, D., Latz, E. Franklin, B.S. (2021). Necroptosis, pyroptosis and apoptosis: an intricate game of cell death. *Cellular & molecular immunology*, 18(5), 1106–1121. <https://doi.org/10.1038/s41423-020-00630-3>
- Bousselin M. (1786). Observations on Necrosis. *The London medical journal*, 7(Pt 3), 263–279.
- Dixon, S.J., Lemberg, K.M., Lamprecht, M.R., Skouta, R., Zaitsev, E.M., Gleason, C.E., Patel, D.N., Bauer, A.J., Cantley, A.M., Yang, W.S., Morrison, B., 3rd, Stockwell, B.R. (2012). Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death. *Cell*, 149(5), 1060–1072. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.042>
- Galluzzi, L., Baehrecke, E.H., Ballabio, A., Boya, P., Bravo-San Pedro, J.M., Cecconi, F., Choi, A.M., Chu, C.T., Codogno, P., Colombo, M.I., Cuervo, A.M., Debnath, J., Deretic, V., Dikic, I., Eskelinen, E.L., Fimia, G.M., Fulda, S., Gewirtz, D.A., Green, D.R., Hansen, M., ... Kroemer, G. (2017). Molecular definitions of autophagy and related processes. *The EMBO journal*, 36(13), 1811–1836. <https://doi.org/10.15252/embj.201796697>
- Galluzzi, L., Vitale, I., Aaronson, S.A., Abrams, J.M., Adam, D., Agostinis, P., Alnemri, E.S., Altucci, L., Amelio, I., Andrews, D.W., Annicchiarico-Petruzzelli, M., Antonov, A.V., Arama, E., ... Kroemer, G. (2018). Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell death and differentiation*, 25(3), 486–541. <https://doi.org/10.1038/s41418-017-0012-4>
- Golstein, P., Kroemer, G. (2007). Cell death by necrosis: towards a molecular definition. *Trends in biochemical sciences*, 32(1), 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.11.001>
- Haverić, A., Haverić, S., Hadžić Omanović, M., Durmišević, I., Ćetković Pećar, T., Čaluk Klačar, L. (2024). Biomarkeri u genotoksikologiji i citotoksikologiji. Univerzitet u Sarajevu - Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju; Sarajevo (BIH). http://www.ingeb.unsa.ba/knjige/Biomarkeri_u_genotoksikologiji_i_citotoksikologiji.pdf

Haverić, S., Haverić, A., Hadžić, M. (2018). Genotoksikologija. Univerzitet u Sarajevu - Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju; Sarajevo (BIH).

Kashyap, B., Reddy, P.S. (2019). Physiologic to Pathologic Cellular and Molecular Levels of Elusive Cell Death Programs and Their Manipulative Action. *Clinics in Oncology*, 4(1):1674. DOI: [10.25107/2474-1663-v4-id1674](https://doi.org/10.25107/2474-1663-v4-id1674)

Kerr, J.F., Wyllie, A.H., Currie, A.R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British journal of cancer*, 26(4), 239–257. <https://doi.org/10.1038/bjc.1972.33>

Klionsky D.J. (2007). Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 8(11), 931–937. <https://doi.org/10.1038/nrm2245>

Kroemer, G., Galluzzi, L., Kepp, O., Zitvogel, L. (2013). Immunogenic cell death in cancer therapy. *Annual review of immunology*, 31, 51–72. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032712-100008>

Li, J., Cao, F., Yin, H.L., Huang, Z.J., Lin, Z.T., Mao, N., Sun, B., Wang, G. (2020). Ferroptosis: past, present and future. *Cell death & disease*, 11(2), 88. <https://doi.org/10.1038/s41419-020-2298-2>

Lowe, S.W., Lin, A.W. (2000). Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, 21(3), 485–495. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.485>

Park, W., Wei, S., Kim, B.S., Kim, B., Bae, S.J., Chae, Y.C., Ryu, D., Ha, K.T. (2023). Diversity and complexity of cell death: a historical review. *Experimental & molecular medicine*, 55(8), 1573–1594. <https://doi.org/10.1038/s12276-023-01078-x>

Peter, M.E., Heufelder, A.E., Hengartner, M.O. (1997). Advances in apoptosis research. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(24), 12736–12737. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.24.12736>

Proteintech Group. (n.d.). What is the difference between necrosis and apoptosis? Pristupljeno Januar 2025. <https://www.ptglab.com/news/blog/what-is-the-difference-between-necrosis-and-apoptosis/>

Stockwell, B.R., Friedmann Angeli, J.P., Bayir, H., Bush, A.I., Conrad, M., Dixon, S.J., Fulda, S., Gascón, S., Hatzios, S.K., Kagan, V.E., Noel, K., Jiang, X., Linkermann, A., ... Zhang, D.D. (2017). Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease. *Cell*, 171(2), 273–285. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.09.021>

Thompson C.B. (1995). Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science (New York, N.Y.)*, 267(5203), 1456–1462. <https://doi.org/10.1126/science.7878464>

Yan, H.F., Zou, T., Tuo, Q.Z., Xu, S., Li, H., Belaïdi, A.A., Lei, P. (2021). Ferroptosis: mechanisms and links with diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 6(1), 49. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00428-9>

Zhang, G., Wang, J., Zhao, Z., Xin, T., Fan, X., Shen, Q., Raheem, A., Lee, C.R., Jiang, H., Ding, J. (2022). Regulated necrosis, a proinflammatory cell death, potentially counteracts pathogenic infections. *Cell death & disease*, 13(7), 637. <https://doi.org/10.1038/s41419-022-05066-3>

Zong, W.X., Thompson, C.B. (2006). Necrotic death as a cell fate. *Genes & development*, 20(1), 1–15. <https://doi.org/10.1101/gad.1376506>

Od 3R do 10R: Unapređenje principa humane upotrebe životinja u naučnim istraživanjima

Selma Ćurovac¹, Irma Durmišević^{1,2}

¹ Udruženje genetičara u Bosni i Hercegovini, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

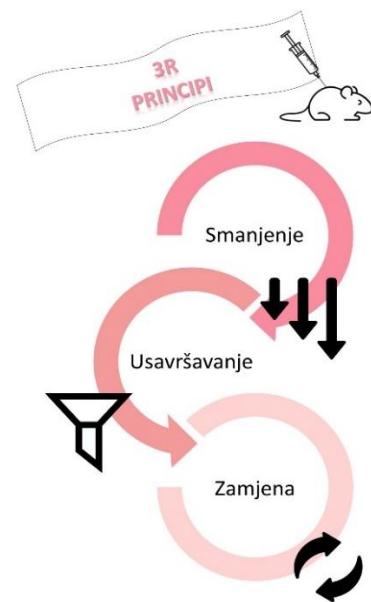
² Univerzitet u Sarajevu - Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Korištenje životinja u istraživačke svrhe, poput testiranja lijekova, modeliranja bolesti, procjene sigurnosti ili unapređenja naučnih saznanja, već desetljećima izaziva brojne kontroverze. Ključna pitanja često se odnose na osjećajnost životinja, potencijalno značajnu štetu koja im može biti nanesena i dilemu da li su takve prakse etički opravdane (Hubrecht & Carter, 2019).

Britanski naučnici W. M. S. Russell (1925–2006) i R. L. Burch (1926–1996) pokrenuli su koncepte zamjene, redukcije i usavršavanja, koje su objavili u svojoj knjizi 1959. godine, „Principi humane eksperimentalne tehnike“. Russell i Burch su predložili novu primjenjenu nauku, čiji je cilj bio poboljšati tretman eksperimentalnih životinja uz unapređenje kvaliteta naučnih i medicinskih istraživanja i testiranja. Principi su predstavljeni ne kao konačna riječ ove nauke, već kao temelj za budući razvoj. 3R-ovi, kako su ih Russell i Burch prvi nazvali, su predloženi ne samo da pomognu istraživačima u pronalaženju i korištenju trenutno dostupnih tehnika, već i da podstaknu razvoj još nepoznatih alata i metodologija, izražavajući fundamentalne

ciljeve nove nauke (Slika 1) (Tannenbaum & Bennett, 2015).

U naučnoj zajednici, većina istraživača iz oblasti bioloških nauka upoznata je sa 3R (zamjena, smanjenje i usavršavanje) i prepoznaje njihovu važnost kao univerzalno prihvaćenog načina za smanjenje patnje životinja u istraživanjima. Ovi principi ne samo da su postali temelj etičkog okvira za eksperimentisanje na životnjama, već su i značajno unaprijedili dobrobit životinja širom svijeta (Hubrecht & Carter, 2019).



Slika 1. Osnovni 3R principi

3R principi danas su nezaobilazan dio modernih istraživanja i podsjećaju nas da nauka, iako ponekad zahtjevna, uvjek može pronaći put ka humanijem pristupu (Hubrecht & Carter, 2019).

Međutim, danas je prvobitni koncept osnovnih principa, principa dobrobiti, 3R (zamjena, smanjenje i usavršavanje), koji su uveli Russell i Burch, proširen sa 7 dodatnih R principa. Oni uključuju naučne principe (registracija, izvještavanje, pouzdanost, reproduktivnost i relevantnost) i principe ponašanja (odgovornost i poštovanje) (Slika 2). Ovi prošireni principi pomažu naučnicima u poboljšanju dobrobiti životinja, unapređenju zdravlja u istraživanjima te osiguravanju integriteta i relevantnosti eksperimenata (Canedo *et al.*, 2022).

Osnovni principi (principi dobrobiti)

I Zamjena (engl. Replace) podrazumijeva metode koje zamjenjuju upotrebu životinja u istraživanjima. To može biti apsolutna, tj. bez upotrebe životinja ili životinjskih tkiva (npr. studije koje uključuju ljudske učesnike, kompjuterske simulacije), ili djelimična, upotreba tkiva ili ćelija životinja. U nekim jurisdikcijama, na primjer u Europskoj uniji, zamjena bi mogla uključivati zamjenu zaštićenih vrsta nezaštićenim vrstama (npr. nezreli kičmenjaci ili beskičmenjaci) (Lewis, 2019).

II Smanjenje (engl. Reduce) se odnosi na minimiziranje broja životinja u istraživanjima uz očuvanje naučne kvalitete. To uključuje pažljiv dizajn i analizu eksperimenata kako bi se osigurali robusni i

ponovljivi nalazi te maksimiziralo prikupljanje podataka po životinji. Primjeri su longitudinalna mjerena na istoj životinji i mikrouzorkovanje krvi, uz balansiranje smanjenja broja životinja s potencijalnom dodatnom patnjom. Također, razmjena podataka i resursa (npr. životinje, tkiva i oprema) između istraživačkih grupa i organizacija također može doprinijeti smanjenju (NC3Rs, *n.d.*).

III Usavršavanje (eng. Refine) nastoji unaprijediti uvjete za životinje u istraživanjima, smanjujući stres, bol i nehumano postupanje. Cilj je osigurati etički prihvatljivo okruženje kroz pažljivo planiranje eksperimenata i primjenu poboljšanih praksi. Na primjer, preporuke za usavršavanje uvjeta za životinje uključuju primjenu analgetika i anestetika, smještaj životinje u društvene grupe uz obogaćivanje okruženja koje omogućava izražavanje prirodnog ponašanja, kao i kontinuirano praćenje dobrobiti životinja prije, tokom i nakon eksperimenta (Lewis, 2019; Haverić *et al.*, 2024).

Naučni principi

IV Registracija (engl. Registration) kao četvrti "R" u istraživanjima na životinjama igra ključnu ulogu u unapređenju transparentnosti i smanjenju pristrasnosti u naučnim istraživanjima. Nepoštovanje principa registracije rezultira pristrasnim, odgođenim ili neprijavljenim rezultatima, čime se smanjuje naučna vrijednost istraživanja. Također, registracija je obaveza prema Helsinškoj deklaraciji i mora biti

odobrena od lokalnih ili nacionalnih etičkih odbora (Canedo *et al.*, 2022).

V Izveštavanje (engl. Reporting) Naučni izvještaj je ključan dokument koji opisuje istraživačke procese, rezultate i izazove tehničkog istraživanja, uz zaključke i preporuke. Njegova svrha uključuje standardizaciju metoda, očuvanje integriteta rezultata i jačanje bioetičkih principa, poput dobrobiti životinja. Međutim, primjena 3R principa često je nedovoljna za etički adekvatnu upotrebu životinja, što zahtijeva uvođenje novih bioetičkih pristupa. Pouzdano izveštavanje, temeljeno na statistički validnim metodama, ključno je za optimizaciju istraživanja i prevazilaženje „krize reproduktivnosti“ koja pogađa one koji traže nove metode i tehnike za svoje eksperimente. Povećanje transparentnosti u izveštavanju zahtijeva etičku odgovornost svih učesnika – istraživača, izdavača i urednika – kako bi se unaprijedila kvaliteta naučnog rada (Canedo *et al.*, 2022).

VI Pouzdanost (engl. Robustness) u istraživanjima označava sposobnost ponavljanja rezultata iz prethodnih eksperimenata, čak i uz male varijacije u reagensima ili eksperimentalnom dizajnu, pri čemu osigurava pouzdanost i reproduktivnost naučnih rezultata, smanjujući zavisnost od promjenjivih eksperimentalnih uslova i povećavajući validnost istraživanja na eksperimentalnim životinjama (Steward, 2016).

VII Reproducibilnost (engl. Reproducibility) je osnovni princip nauke

koji zahtijeva da istraživači mogu ponoviti eksperimente i dobiti iste ili slične rezultate i zaključke. Problemi u reproducibilnosti mogu nastati zbog neadekvatnog eksperimentalnog dizajna, grešaka u metodologiji ili statističkoj analizi, te uticaja na dobrobit životinja. Reproducibilnost je posebno važna za nove modele sistema koji imaju na raspolaganju ograničen broj protokola i informacija. Mjere za poboljšanje reproducibilnosti uključuju pristup protokolima, minimiziranje grešaka i broja životinja, te standardizaciju protokola (Canedo *et al.*, 2022; Gerlai, 2019).

VIII Relevantnost (engl. Relevance) istraživanja osigurava da odabrana životinska vrsta odgovara ciljevima studije. Istraživači moraju poznavati karakteristike modela sistema koji koriste (anatomija, fiziologija, razvoj, ponašanje) i koristiti ih samo kada je relevantna za ljudske bolesti, toksikološke testove ili ekološka istraživanja. Planiranje eksperimenata unaprijed sprječava nepotrebnu upotrebu životinja i osigurava da istraživanje doprinosi unapređenju biološkog znanja (Kilkenny *et al.*, 2010; Mehic, 2011).

Principi ponašanja

IX Odgovornost (engl. Responsibility) za istraživanje na životnjama dijele svi sudionici koji su uključeni u istraživanje. Institucije, etičke komisije za životinje, naučnici/istraživači i skrbnici životinja, svi moraju razumjeti i prihvati svoju odgovornost. Odgovornost za dobrobit životinja zahtijeva procedure o pravilnoj njezi i upravljanju odabranoj vrsti tokom

njenog životnog vijeka, a uključuje broj životinja, izvor životinja, biološki status, transport, prevenciju i ublažavanje boli, patnje, nevolje i bolesti, odgovarajući smještaj i uzgoj, kao i konačno odlaganje (Canedo *et al.*, 2022).

X Poštovanje (engl. Respect) prema životnjama temelji se na bioetičkom imperativu Fritza Jahra, "Svako živo biće mora se poštovati na principu kao cilj sam po sebi i tretirajte ga, ako je moguće, kao takvog". Poštovanje se može pokazati kada svako ko koristi životinje vodi računa o

kvaliteti i dostojanstvu njihovog života. Shodno tome, "R" (poštovanje) u istraživanju sa životnjama također se sastoji od minimiziranja štete za životinje; primjena 10R u svim fazama njege i upravljanja životnjama; primjena najbolje prakse za njegu i upravljanje životnjama; i razumijevanje i prihvatanje svojih odgovornosti, kao i praćenje preporuka nacionalnih zakona i regulatornih smjernica (Zagorac, 2011; Ogden, 1996; Canedo *et al.*, 2022).



Slika 2. Osnovni 3R principi unapređeni sa dvije nove kategorije (naučni i principi ponašanja)

Implementacija 3R/10R principa od suštinskog je značaja, ne samo iz etičkih razloga već i zbog naučne validnosti. Loša dobrobit životinja može ugroziti rezultate istraživanja, jer stres kod životinja često dovodi do nepouzdanih podataka. Primjenom ovih principa, istraživači osiguravaju humano postupanje prema životnjama i istovremeno unapređuju kvalitet svojih naučnih rezultata (Hubrecht & Carter, 2019).

Danas, eksperimenti na ćelijskim kulturama, posebno 3D modelima, značajno su smanjili oslanjanje na istraživanja na životnjama. Međutim, *in vivo* eksperimenti i dalje su neophodni zbog složenosti

bioloških procesa. Životinjski modeli ostaju relevantni zbog sličnosti fiziologije s ljudima, kraćeg životnog ciklusa i mogućnosti proučavanja generacija, što je posebno važno za istraživanje procesa starenja i nasljednih bolesti. Kroz biopsije i svježa tkiva, istraživanja na životnjama omogućavaju bolje razumijevanje bioloških procesa. Ipak, unatoč neosporivim koristima, važno je gledati na životinje kao na živa bića koja osjećaju bol te doživljavaju pozitivna i negativna mentalna stanja (Haverić *et al.*, 2024). Ovi etički izazovi podvlače važnost principa, koji ne samo da promovišu alternativne metode i smanjenje broja životinja u istraživanjima, već i

insistiraju na unapređenju njihove dobrobiti tokom eksperimenata.

Šire implikacije ovih principa sve su očiglednije u modernoj nauci, jer podstiču inovacije u istraživačkim metodologijama i smanjenje oslanjanja na životinjske modele.

Mnoge naučne institucije naglašavaju kulturu brige i transparentnosti, stvarajući okruženje u kojem su etička razmatranja prioritet. Na taj način ovi principi postaju temelj visokokvalitetne, humane i relevantne nauke.

Literatura

- Canedo, A., Saiki, P., Santos, A. L., Carneiro, K. S., Souza, A. M., Qualhato, G., Brito, R. S., Mello-Andrade, F., Rocha, T. L. (2022). Zebrafish (*Danio rerio*) meets bioethics: The 10Rs ethical principles in research. *Ciência Animal Brasileira*, 23(1), e-70884. <https://doi.org/10.1590/1809-6891v23e-70884>
- Gerlai, R. (2019). Reproducibility and replicability in zebrafish behavioral neuroscience research. *Pharmacology, biochemistry, and behavior*, 178, 30–38. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.02.005>
- Haverić, A., Haverić, S., Hadžić Omanović, M., Durmišević, I., Ćetković Pećar, T., Čaluk Klačar, L. (2024). Biomarkeri u genotoksikologiji i citotoksikologiji. Univerzitet u Sarajevu – Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Sarajevo (BiH). http://www.ingeb.unsa.ba/knjige/Biomarkeri_u_genotoksikologiji_i_citotoksikologiji.pdf
- Hubrecht, R.C., Carter, E. (2019). The 3Rs and Humane Experimental Technique: Implementing Change. *Animals (Basel)*, 9(10):754. <https://doi.org/10.3390/ani9100754>
- Kilkenny, C., Browne, W. J., Cuthill, I.C., Emerson, M., Altman, D.G. (2010). Improving bioscience research reporting: the ARRIVE guidelines for reporting animal research. *PLoS biology*, 8(6), e1000412. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000412>
- Lewis, D.I. (2019). Animal experimentation: implementation and application of the 3Rs. *Emerg Top Life Sci* 27; 3 (6): 675–679. doi: <https://doi.org/10.1042/ETLS20190061>
- Mehić, B. (2011). Bioethical Principles of Biomedical Research Involving Animals. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 11(3), 145–146.
- National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. (n.d.). *The 3Rs*. Pristupljeno 10.01.2025. <https://nc3rs.org.uk/who-we-are/3rs>
- Ogden, B.D. (1996). Principles of animal research: replacement, reduction, refinement, and responsibility. *Anim Law*, 2, 167–170.
- Steward, O. (2016). A Rhumba of "R's": Replication, Reproducibility, Rigor, Robustness: What Does a Failure to Replicate Mean?. *eNeuro*, 3(4), ENEURO.0072-16.2016. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0072-16.2016>
- Tannenbaum, J., Bennett, B.T. (2015). Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 54(2), 120–132.
- Zagorac, I. (2011) Fritz Jahr's Bioethical Imperative. *Synth Philos*, 51, 141-150.

Umjetna inteligencija u predviđanju antimikrobne rezistencije

Renata Klasan¹, Ilma Mujković¹, Amina Hajdarević¹

¹ Univerzitet u Sarajevu – Prirodno-matematički fakultet, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Antimikrobna rezistencija (AMR) nastaje kada mikroorganizmi postanu otporni na lijekove koji su nekada učinkovito liječili infekcije. Ova rezistencija otežava kontrolu infekcija, povećava troškove i smrtnost (Muteeb *et al.*, 2023). AMR je globalni problem izazvan prekomjernom upotrebom antibiotika, dok razvoj novih antibiotika nije uspio pratiti rastuću rezistenciju. Predviđanje AMR obrazaca ključno je za pravovremeno prepoznavanje rezistencije i omogućava učinkovite intervencije. Precizna predviđanja poboljšavaju terapije i smanjuju potrebu za širokim antibioticima, dok pružaju važne podatke za javnozdravstvene politike (Yamin *et al.*, 2023).

Umjetna inteligencija (AI) simulira ljudsku inteligenciju u mašinama koje mogu učiti i donositi odluke. AI koristi različite tehnike, uključujući mašinsko učenje (*Machine Learning* - ML), duboko učenje (*Deep Learning* - DL) i obradu prirodnog jezika (*Natural language processing* - NLP). Algoritmi AI-a mogu analizirati podatke poput genomske sekvencije i medicinskih zapisova kako bi predviđali koji mikroorganizmi mogu razviti rezistenciju na određene lijekove (Soori *et al.*, 2023).

AI tehnologije u predviđanju antimikrobne rezistencije

AI tehnologije igraju ključnu ulogu u predviđanju AMR analizom složenih skupova podataka i otkrivanjem obrazaca koji se odnose na rezistenciju (Ali *et al.*, 2023).

Mašinsko učenje (ML) koristi algoritme koji uče iz podataka i donose predviđanja. U predviđanju rezistencije na antibiotike, ML pomaže u analizi velikih skupova podataka kako bi se prepoznali obrazci koji ukazuju na rezistenciju (Sakagianni *et al.*, 2023). Postoje dvije glavne vrste ML tehnika: nadzirano učenje (*supervised learning*) i nenadzirano učenje (*unsupervised learning*). U nadziranom učenju, algoritmi se treniraju na podacima u kojima su ishodi već poznati. Na primjer, algoritmi za klasifikaciju mogu predvidjeti hoće li mikroorganizam biti otporan ili osjetljiv na antibiotike na temelju prethodnih podataka. Stablo odluka (*decision trees*) dijeli podatke na grane kako bi klasificiralo mikroorganizme, dok *Support Vector Machines* (SVM) pronalazi najbolje granice za odvajanje otpornijih od osjetljivijih sojeva. *Random forests*, koji kombiniraju više stabala odluka, poboljšavaju točnost predviđanja prosjekom rezultata iz različitih modela (Yun

et al., 2024). Nenadzirano učenje, s druge strane, koristi podatke koji nemaju oznake i traži skrivene obrasce. U AMR, tehnike grupiranja kao što je *K-Means clustering* grupiraju mikroorganizme sličnih obrazaca rezistencije, a hijerarhijsko grupiranje (*hierarchical clustering*) stvara stablo klastera kako bi ispitalo kako su povezani različiti profili rezistencije. Ove metode pomažu u otkrivanju novih obrazaca rezistencije i grupiranju mikroorganizama sa sličnim osobinama (Ren, 2023).

Duboko učenje (DL) je podskup ML-a koji koristi neuronske mreže s mnogim slojevima za obradu složenih podataka. DL modeli su posebno učinkoviti u predviđanju rezistencije na antibiotike zbog svoje sposobnosti razumijevanja složenih obrazaca u podacima. Jedna vrsta neuronskih mreža u DL su konvolucijske neuronske mreže (*Convolutional Neural Networks* - CNNs). CNN su posebno učinkovite za analizu genetskih podataka. Funkcioniraju tako da proučavaju sekvence i pronalaze važne značajke povezane s mehanizmima rezistencije (Yue *et al.*, 2023). Druga vrsta neuronske mreže je rekurentna neuronska mreža (*Recurrent Neural Network* - RNN) i njene napredne varijante, mreže dugoročnog i kratkoročnog pamćenja (*Long Short-Term Memory Networks* - LSTMs). Ove mreže su izvrsne za analizu podataka koji se mijenjaju tijekom vremena, poput praćenja obrazaca rezistencije. Pomažu u razumijevanju kako rezistencija nastaje i širi se, bilježeći važne promjene tijekom vremena (Branda & Scarapa, 2024).

Obrada prirodnog jezika (NLP) primjenjuje algoritme za analizu ljudskog jezika i ekstrakciju relevantnih informacija iz teksta. U kontekstu predviđanja AMR, NLP tehnike igraju ključnu ulogu u analizi naučne literature i medicinskih zapisa. Prepoznavanje imenovanih entiteta (*Named Entity Recognition* - NER) omogućava identifikaciju i klasifikaciju ključnih entiteta, poput imena gena, lijekova i mehanizma rezistencije, čime se olakšava ekstrakcija važnih podataka iz istraživačkih radova i kliničkih bilješki (Perera *et al.*, 2020; Wieland-Jorna *et al.*, 2024).

Analiza sentimenta, iako prvenstveno usmjerenja na procjenu mišljenja, može se prilagoditi za praćenje stavova prema antibioticima i pitanjima rezistencije (Steede *et al.*, 2018). Tekstualna analiza podataka omogućava otkrivanje skrivenih obrazaca i korelacija u velikim količinama podataka, čime se doprinosi dubljem razumijevanju mehanizma rezistencije i efikasnosti tretmana (Costa *et al.*, 2022).

Izvori podataka i integracija

Sekvencijski podaci genoma patogena pomažu u predviđanju mehanizma rezistencije identifikovanjem mutacija i genetičkih varijacija povezanih s rezistencijom na antimikrobne agense. Ovi podaci pružaju uvid u molekularne mehanizme rezistencije, poput promjena na mjestima ciljeva, produkcije enzima ili propustljivosti membrane (Bianconi *et al.*, 2023). Sekvenciranje DNK ili RNK omogućava identifikaciju genetičkih promjena koje doprinose rezistencije,

uključujući mutacije u genima koji kodiraju ciljeve za antibiotike. Sekvenciranje cijelog genoma (*Whole-genome sequencing - WGS*) pruža sveobuhvatan uvid u gene povezane s rezistencijom i njihovo širenje među vrstama (Gil-Gil *et al.*, 2021).

Integracija genetičkih podataka s kliničkim informacijama, poput historije liječenja, poboljšava predviđanje rezistencije i omogućava bolje usmjeravanje terapija, identificujući najrelevantnije genetičke varijante za rezistenciju u specifičnim kliničkim kontekstima. Jedan uspješan primjer primjene umjetne inteligencije u ovom kontekstu je alat koji koristi konvolucijske neuronske mreže (CNN) za analizu genetičkih podataka i identifikovanje mutacija povezanih s rezistencijom na antimikrobne agense (Chang *et al.*, 2024).

Elektronski zdravstveni zapisi (*Electronic Health Records - EHR*) ključni su za predviđanje AMR-a, jer sadrže važne informacije o demografiji pacijenata, medicinskoj istoriji, terapijama i ishodima liječenja. Analizom EHR-a moguće je pratiti trendove u primjeni antibiotika, odgovorima na liječenje i razvoju rezistencije. Međutim, korištenje ovih podataka nosi izazove vezane za tačnost podataka i zaštitu privatnosti, što zahtijeva usklađenost sa zakonodavstvom poput HIPAA-e (Zakon o prenosivosti i odgovornosti zdravstvenih osiguranja) (Rezel-Potts *et al.*, 2022; Edemekong *et al.*, 2024). Greške ili nedostaci u podacima mogu utjecati na tačnost predviđanja AMR-a, a zaštita

podataka pacijenata je od suštinske važnosti.

Mašinsko učenje, konkretno korištenje metoda poput *Random Forest* i *Support Vector Machines*, može analizirati EHR podatke i procijeniti rizik od rezistencije kod pacijenata. Ove tehnike omogućavaju predviđanje vjerovatnoće rezistencije na specifične antibiotike kod pojedinih pacijenata (Ahmed *et al.*, 2023).

Podaci o nadzoru, prikupljeni iz bolnica, klinika i agencija javnog zdravstva, pružaju uvid u prevalenciju i distribuciju rezistentnih sojeva, prateći infekcije, obrasce rezistencije i izbijanja. Integracija ovih podataka s ekološkim, kliničkim i genomskim informacijama omogućava sveobuhvatniji uvid u AMR i učinkovitije strategije praćenja i prevencije (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2021).

Na kraju, napredni AI sistemi koji koriste NLP omogućavaju analizu velikih količina tekstualnih podataka iz naučne literature i kliničkih izvještaja, čime postaju moćan alat za praćenje AMR-a. Ovi sistemi primjenjuju tehnike poput NER-a za identifikaciju ključnih informacija, ekstrakciju informacija za vađenje strukturiranih podataka iz nestrukturiranog teksta, klasifikaciju teksta za organizaciju dokumenata prema relevantnosti, te analize sentimenta za procjenu stavova naučne zajednice o AMR-u. Ova sveobuhvatna analiza omogućava pravovremeno prepoznavanje trendova rezistencije, pruža detaljan pregled obrazaca AMR-a i doprinosi donošenju

boljih odluka u javnom zdravstvu (Cai *et al.*, 2024).

Podaci o praćenju i nadzoru okoliša također igraju značajnu ulogu u razumijevanju trendova AMR. AI alat dizajniran da analizira uzorke iz otpadnih voda, tla i vode kako bi detektirao gene rezistencije i predvidio potencijalna izbjivanja. Integracijom genomske podataka s kontekstualnim informacijama, kao što su upotreba antimikrobnih sredstava i zapisi o kontaminaciji, alat koristi algoritme poput konvolucijskih neuronskih mreža (CNN) i tehnike mašinskog učenja, poput *Random Forests*, za predviđanje trendova rezistencije. Uključivanje obrade prirodnog jezika (NLP) dodatno jača ova predviđanja analizom relevantne naučne literature. Ovaj kombinovani pristup podržava rano otkrivanje obrazaca rezistencije i omogućava efikasne intervencije u zdravstvenom sektoru. Ipak, izazovi vezani za kvalitet podataka, integraciju raznolikih podataka i održavanje tačnosti predviđanja ostaju prisutni. (Bengtsson-Palme *et al.*, 2023; Liu & Pandey, 2024).

Ključni izazovi u implementaciji AI za predviđanje AMR

Iako AI nudi značajne mogućnosti za predviđanje i upravljanje antimikrobnom rezistencijom, potrebno je riješiti nekoliko izazova kako bi se u potpunosti iskoristio njegov potencijal. Jedan od glavnih problema je kvalitet i privatnost podataka. AI modeli u velikoj mjeri ovise o tačnim i potpunim podacima za efikasna predviđanja (Branda & Scarapa., 2024). Nepotpune ili

netačne informacije iz elektronskih zdravstvenih zapisa ili genomske baze podataka mogu dovesti do pogrešnih rezultata i neadekvatnih prijedloga liječenja. Osim toga, obrada osjetljivih podataka o pacijentima otvara pitanja privatnosti, što zahtijeva usklađenost s regulativama poput HIPAA ili GDPR-a. Za rješavanje ovih izazova ključno je osigurati tačnost podataka kroz temeljnu validaciju i zaštiti privatnost primjenom napredne enkripcije i sigurnih praksi dijeljenja podataka (Xiang & Cai, 2021). Integracija raznovrsnih izvora podataka, poput genomske sekvenci, kliničkih zapisa i podataka o okolišu, predstavlja izazov zbog razlika u formatima, standardima i kvalitetu. Ova fragmentacija može smanjiti efikasnost AI modela. Kako bi se to prevazišlo, usvajanje standardiziranih formata podataka i korištenje naprednih platformi za integraciju može pomoći u sinhronizaciji podataka, čime se poboljšava tačnost i korisnost AI predviđanja. Trenutne AI tehnologije suočavaju se s ograničenjima, poput izazova s generalizacijom modela i potencijalnim pristrasnostima. AI modeli obučeni na specifičnim skupovima podataka možda neće dobro funkcionišati u različitim regijama ili populacijama, što utiče na njihovu šиру primjenjivost. Osim toga, pristrasnosti u podacima za obuku mogu dovesti do nepravednih predviđanja. Da bi se ovi problemi riješili, ključno je koristiti raznovrsne skupove podataka tokom obuke i primjenjivati metode za otkrivanje i minimiziranje pristrasnosti. Ovaj pristup pomaže osigurati da AI predviđanja budu reprezentativnija i pravednija za različite

demografske grupe (Gichoya *et al.*, 2023). Implementacija i skaliranje AI rješenja suočavaju se s praktičnim izazovima, poput ograničene infrastrukture, tehničke ekspertize i finansijskih resursa, posebno u resursno ograničenim sredinama. Efikasna integracija u postojeće kliničke procese također je ključna za prihvatanje ovih

tehnologija. Kako bi se ovi izazovi prevazišli, neophodno je razviti isplativa i skalabilna rješenja, zajedno s alatima usmjerenim na korisnike koji se besprijekorno uklapaju u kliničke prakse, što je ključno za povećanje uticaja AI-a u upravljanju AMR-om (Aldoseri *et al.*, 2023).

Literatura

- Ahmed, Z., Mohamed, K., Zeeshan, S., Dong, X. (2020). Artificial intelligence with multi-functional machine learning platform development for better healthcare and precision medicine. *Database (Oxford)*, 2020(1), baaa010. <https://doi.org/10.1093/database/baaa010>
- Aldoseri, A., Al-Khalifa, K.N., Hamouda, A.M. (2023). Re-thinking data strategy and integration for artificial intelligence: Concepts, opportunities, and challenges. *Applied Sciences*, 13(12), 7082. <https://doi.org/10.3390/app13127082>
- Ali, T., Ahmed, S., Aslam, M. (2023). Artificial intelligence for antimicrobial resistance prediction: Challenges and opportunities towards practical implementation. *Antibiotics (Basel)*, 12(3), 523. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030523>
- Bengtsson-Palme, J., Abramova, A., Berendonk, T.U., Coelho, L.P., Forslund, S.K., Gschwind, R., ... Zahra, R. (2023). Towards monitoring of antimicrobial resistance in the environment: For what reasons, how to implement it, and what are the data needs? *Environment International*, 178, 108089. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.108089>
- Bianconi, I., Aschbacher, R., Pagani, E. (2023). Current uses and future perspectives of genomic technologies in clinical microbiology. *Antibiotics (Basel)*, 12(11), 1580. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111580>
- Branda, F., Scarpa, F. (2024). Implications of artificial intelligence in addressing antimicrobial resistance: Innovations, global challenges, and healthcare's future. *Antibiotics (Basel)*, 13(6), 502. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13060502>
- Cai, C., Shu-Le, L., Yao-Yang, X., Jue, L., Graham, D.W., Zhu, Y. (2024). Characterising global antimicrobial resistance research explains why One Health solutions are slow in development: An application of AI-based gap analysis. *Environment International*, 187, 108680. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108680>
- Chang, T.H., Pourtois, J.D., Haddock, N., Furukawa, D., Hong, T., Amanatullah, D., Burgener, E., Bollyky, P. (2024). Using genomic tools to predict antimicrobial resistance and markers in clinical bacterial samples. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2024.06.02.595912>
- Costa, K.F., Araújo, F.A., Morais, J., Frances, C.R.L., Ramos, R.T.J. (2022). Text mining for identification of biological entities related to antibiotic-resistant organisms. *PeerJ*, 10, e13351. <https://doi.org/10.7717/peerj.13351>

- Edemekong, P.F., Annamaraju, P., Haydel, M.J. (2024). Health insurance portability and accountability act. *StatPearls*. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500019/>
- Gichoya, J.W., Thomas, K., Celi, L.A., Safdar, N., Banerjee, I., Banja, J.D., Seyyed-Kalantari, L., Trivedi, H., Purkayastha, S. (2023). AI pitfalls and what not to do: Mitigating bias in AI. *British Journal of Radiology*, 96(1150), 20230023. <https://doi.org/10.1259/bjr.20230023>
- Gil-Gil, T., Ochoa-Sánchez, L.E., Baquero, F., Martínez, J.L. (2021). Antibiotic resistance: Time of synthesis in a post-genomic age. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 3110–3124. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.05.034>
- Liu, C.S.C., Pandey, R. (2024). Integrative genomics would strengthen AMR understanding through ONE health approach. *Heliyon*, 10(14), e34719. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34719>
- Muteeb, G., Rehman, M.T., Shahwan, M., Aatif, M. (2023). Origin of antibiotics and antibiotic resistance, and their impacts on drug development: A narrative review. *Pharmaceuticals (Basel)*, 16(11), 1615. <https://doi.org/10.3390/ph16111615>
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. (2021). Combating antimicrobial resistance and protecting the miracle of modern medicine. Washington, DC: National Academies Press. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK577274/>
- Perera, N., Dehmer, M., Emmert-Streib, F. (2020). Named entity recognition and relation detection for biomedical information extraction. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 8, 673. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00673>
- Ren, Y. (2023). Application of machine learning in the detection of antimicrobial resistance. Philipps-Universität Marburg. <https://doi.org/10.17192/z2024.0050>
- Rezel-Potts, E., Gulliford, M. (2022). Electronic health records and antimicrobial stewardship research: A narrative review. *Current Epidemiology Reports*, 4, 940330. <https://doi.org/10.1007/s40471-021-00278-1>
- Sakagianni, A., Koufopoulou, C., Feretzakis, G., Kalles, D., Verykios, V.S., Myrianthefs, P., Fildisis, G. (2023). Using machine learning to predict antimicrobial resistance: A literature review. *Antibiotics (Basel)*, 12(3), 452. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030452>
- Soori, M., Arezoo, B., Dastres, R. (2023). Artificial intelligence, machine learning, and deep learning in advanced robotics: A review. *Cognitive Robotics*, 3, 54–70. <https://doi.org/10.1016/j.cogr.2023.04.001>
- Steede, G., Meyers, C., Li, N., Irlbeck, E., Gearhart, S. (2018). A sentiment and content analysis of Twitter content regarding the use of antibiotics in livestock. *Journal of Applied Communications*, 102(2), 1–12. <https://doi.org/10.4148/1051-0834.2225>
- Wieland-Jorna, Y., van Kooten, D., Verheij, R.A., de Man, Y., Francke, A.L., Oosterveld-Vlug, M.G. (2024). Natural language processing systems for extracting information from electronic health records about activities of daily living: A systematic review. *JAMIA Open*, 7(2), ooae044. <https://doi.org/10.1093/jamiaopen/ooae044>
- Xiang, D., Cai, W. (2021). Privacy protection and secondary use of health data: Strategies and methods. *Biomedical Research International*, 2021, 6967166. <https://doi.org/10.1155/2021/6967166>
- Yamin, D., Uskoković, V., Wakil, A.M., Goni, M.D., Shamsuddin, S.H., Mustafa, F.H., Alfouzan, W.A., Alissa, M., Alshengeti, A., Almaghrabi, R.H., Fares, M.A.A., Garout, M., Al Kaabi, N.A., Alshehri, A.A., Ali, H.M., Rabaan, A.A., Aldubisi, F.A., Yean, C.Y., Yusof, N. Y. (2023). Current and future technologies for the

detection of antibiotic-resistant bacteria. *Diagnostics (Basel)*, 13(20), 3246. <https://doi.org/10.3390/diagnostics13203246>

Yue, T., Wang, Y., Zhang, L., Gu, C., Xue, H., Wang, W., ... Dun, Y. (2023). Deep learning for genomics: From early neural nets to modern large language models. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21), 15858. <https://doi.org/10.3390/ijms242115858>

Yun, B., Liao, X., Feng, J., Ding, T. (2024). Machine learning-enabled prediction of antimicrobial resistance in foodborne pathogens. *CyTA - Journal of Food*, 22(1). <https://doi.org/10.1080/19476337.2024.2324024>

Bojenje tkanina genetički modificiranim mikroorganizmima*

Kasim Bajrović¹, Lejla Pojskić¹

¹ Univerzitet u Sarajevu – Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Uvod

Jedan od najvažnijih resursa za život na planeti Zemlji je voda. Zemlju čini 25% kopna i 75% vode, od toga 97% vode se nalazi u morima i okeanima a samo 3% u podzemnim vodama, ledenjacima te mali postotak u atmosferi. Oko 2,5% vode na Zemlji spada u slatke vode a od toga 99% se nalazi zarobljeno u ledu i podzemnim vodama. Svega oko 0,3% slatkih voda nalazi se u rijekama, slatkovodnim jezerima i atmosferi. Da bi ljudska populacija opstala neophodno je zaštiti postojeće zalihe slatke vode i poboljšati već postojeće onečišćene vode.

Kako se do 2050. godine očekuje porast ljudske populacije na oko 11 mlrd, UN procjenjuje da će potrebe za pitkom vodom porasti za 40%. Istovremeno, neodgovorno upravljanje vodnim resursima, porast zagađenja životne sredine i klimatske promjene moglo bi dovesti izvore pitke vode do kritične tačke i prije 2050. godine. Zbog toga je jedan od temeljnih ciljeva održivog razvoja upravo zaštita vodnih resursa kroz razvoj i uvođenje novih tzv. zelenih tehnologija i tehnološku transformaciju najvećih industrijskih zagađivača.

U tekstilnoj industriji se koristi oko devet triliona galona vode godišnje. Tekstilna industrija stvara oko 20% svih otpadnih voda, a mnoge tekstilne boje se dobivaju iz neobnovljivih izvora kao što su fosilna goriva. Otpadne vode u tekstilnoj industriji nastaju u procesu pripreme sirovina, bojanja vlakana ili tkanine, u procesima dorade i specijalnih obrada gotovih tkanina. Sadrže visok nivo tvari organskog ili anorganskog porijekla, visoku obojenost, različite minerale i teške metale, a često i toksične i kancerogene tvari. Više od 8.000 kiselina, rastvarača i aditiva koristi za proizvodnju različitih nijansi i efekata na tkaninama. Neki od primjera štetnih boja su arsen, formaldehid, sumpor i dr.

Zbog svega navedenog istraživanja alternativnih tehnologija bojanja u tekstilnoj industriji dobiva prvorazredan značaj, prvenstveno zbog velikog zagađenja okoliša i vodnih resursa anorganskim i sintetskim bojama, ali i ukupnih visokih troškova proizvodnje i emisije stakleničkih gasova.

Kao alternativni izvor u novim tehnologijama bojanja, sve više se koriste mikroorganizmi mogu proizvesti široku lepezu pigmenata kao što su riboflavin,

karoten, likopen, astaksantin, lutein, zeaksantin i dr. Oni mogu biti podvrgnuti genetskim modifikacijama tokom kojeg nastaju genetički modificirani mikroorganizmi (GMM) u kojima se optimizira proizvodnja prirodnih pigmenata. Ovim putem dobiveni, biorazgradivi pigmenti smanjuju zdravstvene rizike kod ljudi i bitno smanjuju zagađenje životne sredine.

Pigmenti iz mikroorganizama

Prirodne boje dobivene iz različitih biljnih vrsta koriste se tradicionalno za bojenje tkanina. Indigo kojeg su pronašli arheolozi pronašli na obali Perua je otkriven na komadu tkanine starom 6.000 godina. Grimizna boja ekstrahirana je iz različitih insekata, a ljubičasta boja iz puževa. Postoje podaci o bojama iz gljiva, međutim od nedavno su dobivene boje i od bakterija koje se inače široko koriste u preradi hrane, medicini i mnogim drugim sverama života.

Faktori koji utiču na proizvodnju pigmenta kod mikroorganizama su: temperatura, osvjetljenje, vrijeme inkubacije, pH i drugi. Različite vrste bakterija zahtijevaju različite temperature za proizvodnju pigmenata kao što su *Monascus* od 25-28°C ili *Pseudomonas* od 35-36°C. pH vrijednost je vrlo važan faktor, posebno u proizvodnji karotenoida, a različite pH vrijednosti tokom procesa produkcije mogu usmjeriti metabolizam mikroorganizama u korist jednog ili drugog pigmenta (Slika 1). Ostali faktori uključuju izvor ugljika, koncentraciju mineralnih

materija, vrstu fermentacije, aeraciju, sadržaj vlage i dr.



Slika 1. Pigmenti dobiveni iz mikroorganizama

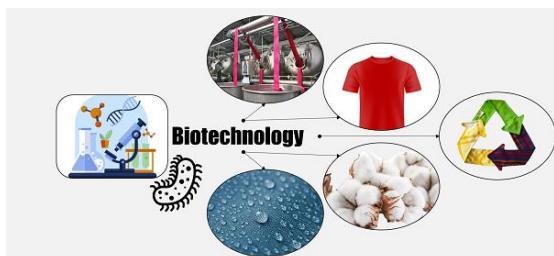
Jedan od najprisutnijih pigmenata u tekstilnoj industriji koji se sintetizira iz anilina, sirovine dobivene iz fosilnih goriva, je indigo. Razvojem genetičkog inženjerstva i biotehnologije pronađene su mnoge vrste bakterija koje proizvode indigo u svojim metaboličkim procesima. Ove bakterije posjeduju specifične enzime za katalizu indola u indigo pomoću procesa oksigenacije. Manipulacija genetičkom osnovom mikroorganizama, moguće je potaknuti ekspresiju više gena odgovornih za pigmente i na taj način povećati prinose u tehnologiji bojenja posredstvom mikroorganizama (bakterija *E. coli* daje 1g/L indiga u bioreaktorima).

Pokazalo se takođe da *Serratia marcescens* proizvodi pigment za bojenje mnogih tkanina uključujući pamuk, svilu i poliester u dovoljnim količinama. Ekstrakti sojeva *Streptomyces* sadrže pigmente koji daju jako crvene i plave boje sposobne za bojenje sintetičkih vlakana kao što su poliamid, akril i poliester.

Genetički modificirani mikroorganizami (GMM)

Genetičkom promjenom bakterije *E. coli* pospješuje se bioproduktivnost različitih

boja (Slika 2) u bakterijskom metabolizmu. *E. coli* se koristi kao model organizam u tehnologiji rekombinantnih proteina, zbog brzog rasta i njihove jednostavne laboratorijske propagacije. Bolje razumijevanje ekspresije gena i metabolizma olakšalo je genetičko inženjerstvo u *E. coli* u drugim bakterijama.



Slika 2. Biotehnologija za potrebe tekstilne industrije

Genetički modificirana *Serratia marcescens* je sposobna da proizvode veće količine pigmenta. *Corynebacterium glutamicum* je genetički modificirana bakterija za proizvodnju veće količine indigoidina (boje nalik indigu). Ekspresijom enzima indigoidin sintetaze iz druge vrste, a zatim modulacijom opskrbe nutrijentima poboljšala se proizvodnja indigidina i ograničilo stvaranje nusproizvoda.

Metaboličkim putevima karotenoida se manipulira kako bi se dobili β -karoten, zeaksantin i astaksantin. Ovi pigmenti imaju narandžastu, žutu i crvenu boju. Ćelije *E. coli* funkcionišu kao suerefikasne "tvornice" za proizvodnju egzogenih pigmenata. Studija koju su sprovedli Lee i saradnici koristila je linije nepatogenih sojeva *E. coli* za proizvodnju značajnih količina navedenih boja. Manipulacija raznim faktorima omogućila je povećanje proizvodnje

pigmenata što je potaknulo daljnja istraživanja za izolaciju gena i dobijanje željenih pigmenata (Slika 3).



Slika 3. Genetički modificirane bakterije koje proizvode β -karoten

Bojenje tkanina pigmentima iz GMM

Savremena biotehnologija bojenja tkanina, kopira prirodne procese u laboratorijskim uslovima, replicirajući 'DNK poruku' koja kodira određenu boju u *E. coli*. Jedno od otkrića naučnika sa Univerziteta u Cambridgeu podrazumijeva izolaciju gena za pigmente kod papagaja. Izolovani DNK fragment, naučnici su integrirali u genom mikroorganizma sa ciljem da u laboratorijskim uslovima dobiju isti crveni pigment koji ima papagaj. U bioreaktoru (mašini za fermentaciju) broj bakterijskih ćelija se udvostruči svakih 25-30 minuta na podlozi šećerne melase i azota. Umnožavanja bakterija u bioreaktoru slična je pravljenju piva, ali se umjesto alkohola stvaraju različiti pigmenti – boje koje je moguće bezbjedno koristiti i u tekstilnoj industriji. Obojene bakterije se zatim direktno nanose na tekstil i zagrijavaju do njihove lize (pucanja), koje tada ispuštaju pigment i oboje tkaninu. Za 10 dana mikroorganizmi mogu narasti u toj

količini, da se može proizvesti 50 t otopine za bojenje tkanina u toku jednog radnog dana. Mikroorganizmi u biotehnološkom procesu daju ogromnu prednost u odnosu na tradicionalne (hemijske) tehnologije bojenja tektila jer se u procesu koristi 90% manje vode, 40% manje energije i nema potrebe za korištenjem toksičnim hemikalijama u samom procesu proizvodnje (Slika 4).



Slika 4. Obojene tkanine pigmentima iz GMM

Neke evropske kompanije već koriste bakterije za dobivanje različitih pigmenta koji služe za bojenje tektila. Na ovaj način se boji bilo koja vrsta materijala, od pamuka do poliestera sa širokim spektrom boja narandžaste, crvene, ljubičaste, plave i drugih. U ovom procesu nije potrebna voda dok je za bojenje sa sintetičkim bojama neophodna ogromna količina vode. Također izvori boje (bakterije) se pohranjuju u laboratorijskim uslovima i mogu se umnožavati u bilo kojem vremenskom periodu i godišnjem dobu što značajno utiče na ekonomičnost samog procesa.

Natsai Audrey Chieza uzgaja bakterije direktno na svili kako bi prirodno obojila tekstil. Bezopasna bakterija *Streptomyces coelicolor*, živi u zajednici sa drugim organizmima u zemljištu razgrađujući organsku materiju. Proizvodi pigment koji, ovisno o kiselosti okoline, varira od ružičaste preko plave do ljubičaste. U eksperimentu malog obima, Natsai je uronio komade tkanine u razrijeđenu tečnu kulturu *Streptomyces coelicolor* i postavio ih na sloj podloge za rast. Kolonije su se razvile nakon nekoliko dana inkubacije, kako na vrhu tkanine, tako i u području između tkanine i podloge. Kako su se kolonije širile, milioni ćelija su stvarale pigment te je boja postala očigledna golim okom. Kolonije su se razvile a tkanina je postepeno poprimila crveua, ružičastu, ljubičastu ili plavu boju.

Zaključak

Prema nama dostupnim podacima oko 20% globalnih emisija i onečišćenja dolazi iz tekstilne industrije i tehnologije bojenja tektila. Bakterijski i drugi pigmenti dobijeni iz živih organizama predstavljaju izvrsnu alternativu sintetičkim bojama koje se trenutno široko koriste u tekstilnoj industriji. Genetički modificiranim bakterijama se lako manipulira, jednostavan je proces njihovog uzgoja u industrijskim laboratorijama, a proces proizvodnje ima drastično manji efekat na okoliš i zdravlje ljudi nego tradicionalni načini bojenja. Za veću i efikasniju proizvodnju pigmenta u bakterijama neophodno još bolje poznavanje njihovih složenih metaboličkih puteva i naučno usavršavanje novih

tehnoloških procesa kako bi one postale što efikasnija i ekonomičnija alternativa sintetskim bojama.

Genetičko inženjerstvo se koristi za modifikaciju bakterija kao što je *E. coli* i kreiranje novih sojeva koji će moći proizvoditi širok spektar tekstilnih boja uz što manje ulaganje u proizvodni proces, a s druge strane kao takav proces baziran na genetičkom inženjerstvu i biotehnologiji

može pomoći u dostizanju ciljeva zelene proizvodnje koja će imati što manji štetan efekat na okoliš i zdravlje ljudi uz smanjenje toksičnih nus-prodakata i emisije stakleničkih gasova.

* Članak je u istom obliku objavljen u glasili Udruženja građana porijekolom iz Sandžaka u BiH, Damar (2023), broj 39:20-23.

Literatura

- <https://asm.org/Articles/2017/November/bacterial-dyes-in-fashion>
- <https://www.ecowatch.com/bacteria-dye-fashion-industry-2647048293.html?rebellitem=6#rebellitem6>
- <https://www.fastcompany.com/90257662/these-gorgeous-colors-come-from-dye-made-by-bacteria-not-chemicals>
- <https://medium.com/swlh/beautiful-bacteria-how-biodesign-is-changing-the-way-the-fashion-industry-produces-colour-cc481fb851a>
- <https://www.isc3.org/en/activities/innovation/start-up-of-the-month/article/kbcols-produces-environmentally-friendly-colourants-from-microbes-1.html>

Bruce Ames (1928 – 2024) – kreator Ames testa

Anja Haverić

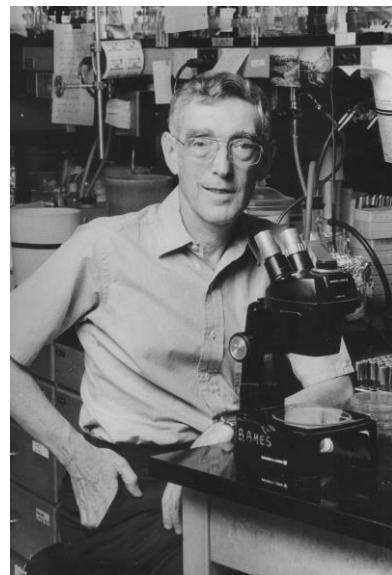
Univerzitet u Sarajevu - Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Nakon posljednjeg izdanja Biltena Udruženja genetičara u BiH, tačnije 5. oktobra 2024. godine, preminuo je *Bruce Nathan Ames* (16. decembar 1928. – 5. oktobar 2024), američki biohemičar i genetičar kojeg će historija ali i mutageneza zasigurno zauvijek pamtitи po razvoju Ames testa - jednostavne i pristupačne metode za detekciju hemijskih mutagena. Prema riječima njegove supruge, Giovanne Ferro-Luzzi Ames, preminuo je od komplikacija nakon pada, u 95. godini života.

Njegov otac bio je profesor hemije u gimnaziji a majka mu je bila sekretarica. Pohađao je gimnaziju za nauku - *Bronx High School of Science*, gdje je proveo i svoj prvi eksperiment izlažući korijen paradajza hormonima za stimulaciju rasta. B. Ames je diplomirao hemiju 1950. godine na *Cornell univerzitetu* a zatim na *California Institute of Technology* 1953. doktorirao biohemiju.

Ames test, kojim je omogućio procjenu potencijala hemikalija da izazovu mutacije u bakteriji *Salmonella typhimurium*, uveo je u genotoksikološku praksu 70-ih godina 20. vijeka, inspirisan listom sastojaka na pakovanju čipsa, koja ga je potakla na razmišljanje da li konzervansi i druge

hemikalije u prehrambenoj industriji izazivaju oštećenja genetičkog materijala. S obzirom da u to vrijeme nije postojao praktičan, efikasan i pristupačan način za testiranje hemijskih mutagena, dr. Bruce Ames je naporno radio da upravo nešto takvo razvije (slika 1). Težeći da novi metod omogući i brzu detekciju hemijskih mutagena, ne iznenađuje činjenica da je za model izabrao bakterije i to histidin zavisne mutante *S. typhimurium* kojih je imao u izobilju.



Slika 1. Dr. Bruce Ames 1987. godine, *University of California, Berkeley*, gdje je kreirao Ames test (<https://www.nytimes.com/2024/10/21/health/bruce-ames-dead.html>)

Različite varijante ovog testa podrazumijevaju praćenja formiranja kolonija različitih sojeva bakterija *Salmonella typhimurium* na agaru u odsustvu histidina. Za rast i razvoj svih sojeva *S. typhimurium*, kako normalnih, tako i mutiranih, potreban je histidin. Međutim, mutanti koji imaju mutaciju u kodonu za histidin, nemaju sposobnost sinteze ove aminokiseline. U prisustvu genotoksina tj. mutagena događaju se reverzne mutacije te se mutirani kodon vraća u funkcionalni a bakterije mogu preživjeti na agaru u odsustvu histidina.

Iako je sam razvoj testa trajao gotovo cijelu deceniju (do 1973. godine), njegova kasnija primjena je bila ključna za zabranu upotrebe više sintetičkih hemikalija, a dr. Ames je donijela brojna naučna priznanja, nagrade, kao i pozicije u svijetu nauke i obrazovanja.

Dugogodišnji razvoj testa bio je uslovjen brojnim izazovima na koje je Ames nailazio. Na primjer, morao je osmisliti način da dokaže da upotreba bakterija kao model organizama može pouzdano predstavljati mutageni potencijal i u humanim ćelijama; odabrati odgovarajući, dovoljno osjetljiv soj bakterije zbog čega je morao eliminisati određene DNK reparacijske mehanizme u bakterijskim sojevima; morao je osigurati i mogućnost testiranja onih hemikalija za koje je potrebna metabolička aktivacija da bi ispoljile mutageni potencijal te odgovoriti na ograničenja samog testa poput lažno pozitivnih rezultata.

Metaboličku aktivaciju je osigurao dodavanjem metaboličkih aktivatora poput homogenata jetre (S9 frakcija) pacova ili čovjeka za simulaciju metabolizma sisara čime je omogućio da se u bakterijskom organizmu potpuno pouzdano testira odgovor ljudskog organizma na potencijalne mutagene odnosno kancerogene. Naime Ames je svoj rad zasnovao na prepostavci da ako supstanca ne izaziva mutacije, nije ni kancerogena što je kasnije postao centralni koncept istraživanja kancera.

Primjenom više različitih sojeva *S. typhimurium* bakterija, od kojih je svaki bio sa specifičnom mutacijom u histidinskom operonu (skupini gena koji djeluju kao jedna funkcionalna i regulirajuća cjelina i odgovorni su za sintezu histidina), omogućio je detekciju različitih mutacija, uključujući mutacije pomaka okvira čitanja i tačkaste mutacije, čime je povećao senzitivnost testa i opseg detekcije.

Ames je test validirao primjenom poznatih karcinogena kao što su 2-aminofluoren, benzo(a)piren i benzidin.

Svojim radom, dr. Ames je adresirao još nekoliko važnih aspekata kancerogeneze i istraživanja uzroka kancera uopće. Naime, ukazao je da i pojedine prirodne supstance u hrani, a ne samo sintetičke, mogu imati kancerogeni potencijal. Ukazao je i na činjenicu da mnoga oštećenja genetičkog materijala u ljudskim ćelijama nastaju zbog nedostatka esencijalnih mikronutrijenata i oksidacije DNK tokom normalnog metabolizma, što je istaklo važnost prehrane u prevenciji kancera.

Činjenica da dr. Ames nije patentirao svoj intelektualni proizvod, što je u svijetu biohemičara naprosto nezamislivo te da je besplatno distribuirao sojeve bakterija istraživačima širom svijeta značajno je utjecala na brzu primjenu testa i njegov značaj u toksikologiji, posebno na povlačenje brojnih hemikalija iz komercijalne upotrebe i donošenje strožijih regulativa za hemijske proizvode. Samo tri godine nakon uvođenja testa primjenjivalo ga je više od 60 vodećih svjetskih kompanija, a Ames je samo tražio simbolične donacije koje bi osigurale nastavak njegovog rada i pokrile troškove slanja bakterija.

Do zabrane upotrebe određenih hemikalija u bojama za kosu došlo je nakon što je proveo istraživanje sa svojim studentima na dodiplomskom studiju. Svi su imali obavezu da donesu nešto za testiranje. Jedan od studenata je donio upravo boju za kosu koju je posudio od svoje djevojke. Nakon testiranja sve ostale hemikalije su pokazale negativan mutageni potencijal dok je samo boja za kosu bila mutagena. Ames je nakon toga poslao svoju saradnicu, Edith Yamasaki, da kupi svaku vrstu boje za kosu u obližnjim radnjama te nakon intenzivnog istraživanja zaključio da su boje za kosu, koje je u to vrijeme koristilo oko 20 miliona amerikanaca imale visok potencijal izazivanja kancera i kongenitalnih

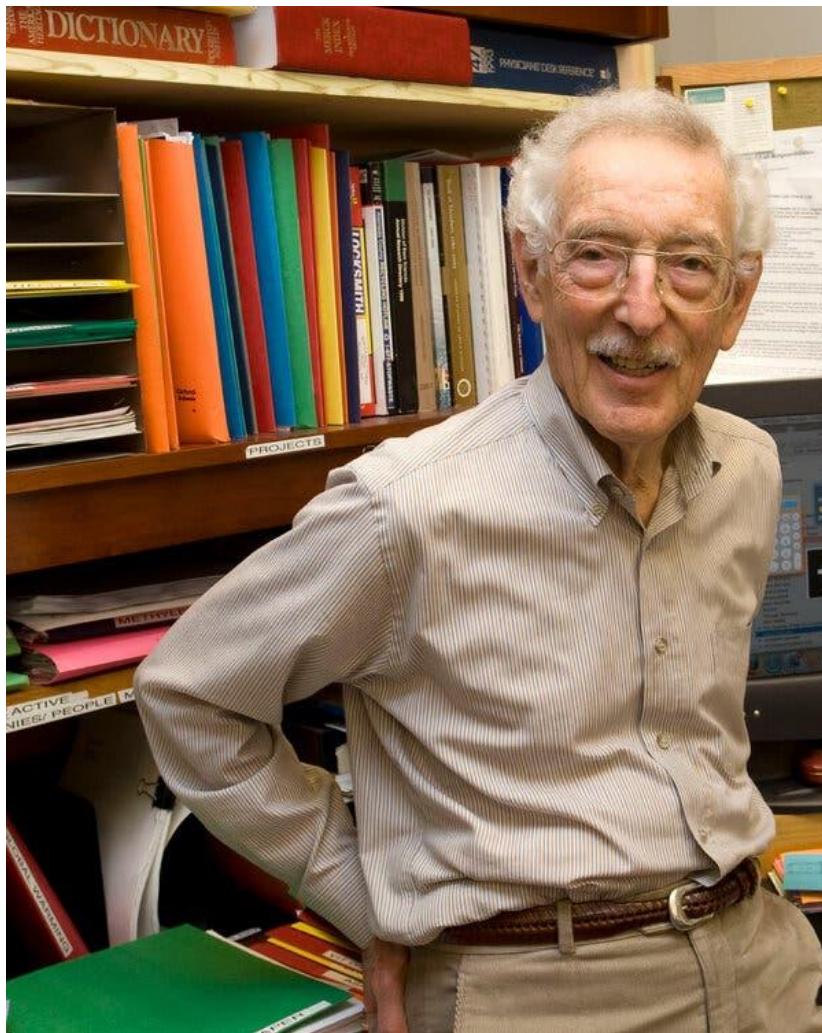
malformacija. Uputio je pismo svim nadležnim kompanijama i ukazao na problem i potrebu da se nešto po tom pitanju poduzme.

Samo godinu kasnije, dr. Ames je dokazao mutageni potencijal Tris-a, hemikalije koja se u to vrijeme koristila u dječijim pidžamama zbog otpornosti na plamen. Prema nekim procjenama, u to vrijeme je 45 miliona djece nosilo ove pidžame a Amesovo otkriće je rezultiralo potpunom zabranom upotrebe Trisa u tekstilnoj industriji.

Kako se povećavao broj naučnika i kompanija koje su koristile Ames test, rastao je i spisak hemikalija sa poznatim mutagenim efektima, koje su zatim zabranjivane za upotrebu.

Sa jačanjem ekoloških pokreta i njihovih pritisaka na hemijsku industriju, Amesova se uloga blago promijenila. Ukazivao je da pojedine hemikalije iako su tehnički mutagene nemaju ništa veći kapacitet induciranja oštećenja DNK od bojnih prirodnih supstanci. Čak je ukazivao da skretanje pažnje sa "važnih na nevažne stvari, neće pomoći javnost".

Dr. Bruce Ames, ostao je aktivan mnogo nakon prosječnog radnog vijeka ističući da "starenje nije utjecalo na njegove gene za entuzijazam" (slika 2).



Slika 2. Dr. Ames 2008. godine; *Children's Hospital Oakland Research Institute*, gdje je nastavio raditi i u svojim 70-im godinama
(<https://www.nytimes.com/2024/10/21/health/bruce-ames-dead.html>)

Najave konferencija

Maida Hadžić Omanović

Univerzitet u Sarajevu – Institut za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

5th International Conference on Lymphocyte Engineering (ICLE)

20-22 February 2025, Munich, Germany

Web: <https://lymphocyte.kenes.com/welcome-to-icle/>



Web: <https://ecfg17.org/>



Genomics of Rare Disease

25–27 March 2024

Wellcome Genome Campus, UK and virtual

Web: <https://coursesandconferences.wellcomeconnectingscience.org/event/genomics-of-rare-disease-20240325/>

EMBL Symposium: Theory and concepts in biology

6-9 May, 2025, EMBL Heidelberg, Germany and Virtual

Web: <https://www.embl.org/about/info/course-and-conference-office/events/ees25-03/>



Welcome to the European Human Genetics Conference

Hybrid Conference

Milan, Italy

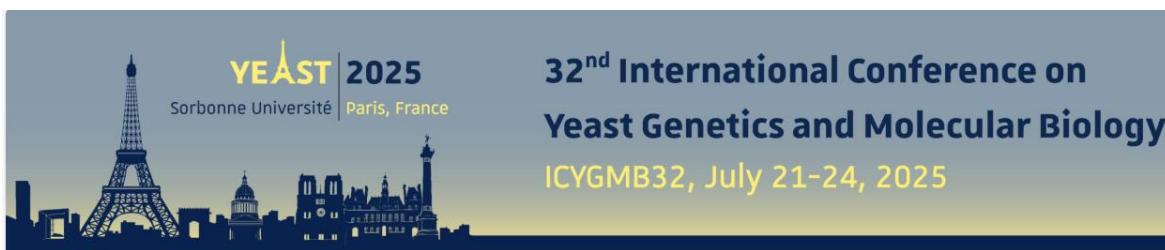
MAY 24–27, 2025

Web: <https://2025.eshg.org/>

53rd Congress of the European Environmental Mutagenesis and Genomics Society (EEMGS)

2-5 June, Bratislava, Slovakia

Web: <https://eemgs.eu/events/>



Web: <https://premc.org/yeast2025/>

A promotional banner for the EUROTOX online training and homework program. It features hands holding puzzle pieces, one of which has a small icon on it. The EUROTOX logo is prominently displayed in the center. The text includes "euROTOX Online training and homework Spring/Summer 2025", "On-site evaluation Sarajevo, Bosnia and Herzegovina September 24 - 26, 2025", and "Part of ERT certification". Below this, the text "Advancing Risk Assessment and Compliance with European Regulations" is followed by three circular icons with text: "Understand the basic principles and methods used in risk assessment", "Understand the application of risk assessment in different regulatory frameworks", and "Interpret data submitted for the purpose of registration and labelling of different types of chemicals". At the bottom, it says "Apply for the advanced regulatory workshop of EUROTOX" and "co-organised with: GENoBiH" next to its logo, with "additional information: www.genubih.ba".