

Oznaka poročila: ARRS-RPROJ-ZP-2013/235



## ZAKLJUČNO POROČILO RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

## A. PODATKI O RAZISKOVALNEM PROJEKTU

## 1. Osnovni podatki o raziskovalnem projektu

<b>Šifra projekta</b>	J1-2054
<b>Naslov projekta</b>	Molekularni mehanizmi sinergističnih in antagonističnih toksičnih učinkov heterocikličnih aminov v kombinaciji z bioaktivnimi prehranskimi onesnažili in naravnimi sestavinami
<b>Vodja projekta</b>	9892 Metka Filipič
<b>Tip projekta</b>	J Temeljni projekt
<b>Obseg raziskovalnih ur</b>	4173
<b>Cenovni razred</b>	C
<b>Trajanje projekta</b>	05.2009 - 04.2012
<b>Nosilna raziskovalna organizacija</b>	105 Nacionalni inštitut za biologijo
<b>Raziskovalne organizacije - soizvajalke</b>	481 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta
<b>Raziskovalno področje po šifrantu ARRS</b>	1 NARAVOSLOVJE 1.05 Biokemija in molekularna biologija
<b>Družbeno-ekonomski cilj</b>	07. Zdravje

2. Raziskovalno področje po šifrantu FOS<sup>1</sup>

<b>Šifra</b>	1.06
<b>- Veda</b>	1 Naravoslovne vede
<b>- Področje</b>	1.06 Biologija

## B. REZULTATI IN DOSEŽKI RAZISKOVALNEGA PROJEKTA

3. Povzetek raziskovalnega projekta<sup>2</sup>

SLO

Prehranski dejavniki imajo odločilno vlogo v etiologiji raka pri ljudeh. Delimo jih lahko v dve skupini: povzročitelje raka in preprečevalce raka. Priprava živil pri

visokih temperaturah povzroči nastanek karcinogenih heterocikličnih aromatskih aminov (HCA). Čeprav in vitro, kot tudi in vivo eksperimentalni podatki potrjujejo genotoksično in karcinogeno delovanje teh snovi, pa natančna ocena tveganja pri izpostavljenosti nizkim dozam v kompleksnih zmesih ni mogoča brez poznavanja njihovega načina delovanja. Pokazali smo, da čisti HCA (IQ, DiMeIQx, MeIQx, PhIP), ki se najpogosteje pojavljajo v pečenem mesu, pri metabolno aktivnih celicah HepG2 povzročajo poškodbe DNA ne pa nastanka mikrojedr. Ekstrakti pečenega mesa (GME) z definirano količino in sestavo HCA poškodb DNA niso povzročili, tvorbo mikrojedr pa je povzročil ekstrakt piščančjega mesa (GCE). Raziskave vpliva na izražanje genov presnovnih encimov so pokazale, da čisti HCA, njihove zmesi in GCE inducirajo povečano izražanje genov presnovnih encimov *CYP1A1* in *CYP1A2*, ki so odgovorni za aktivacijo HCA ter *UGT1A1*, ki je odgovoren za detoksifikacijo. Kvantitativna analiza sprememb izražanja presnovnih genov je pokazala izrazit sinergističen učinek zmesi HCA in GCE. Raziskave vpliva čistih HCA na izražanje izbranih genov, ki se odzivajo na poškodbe DNA (*P53*, *CDKN1A*, *GADD45 $\alpha$* , *MDM2*) so pokazale povečano izražanje *CDKN1A* in *GADD45 $\alpha$* , kar potrjuje genotoksično delovanje HCA. Učinek zmesi HCA in GCE na izražanje *CDKN1A* je bil, podobno kot pri metabolnih genih, sinergističen. Apoptoza je pomemben mehanizem zaščite organizmov pred nastankom in razvojem raka. Pokazali smo, da čisti HCA, in zmesi HCA ne vplivajo na aktivnost in izražanje efektorskih kaspaz 3 in 7 in proapoptotskega gena *BAX*, povečajo pa izražanje antiapoptotskega gena *BCL-2*. To so novi izsledki, ki nakazujejo, da HCA in njihove zmesi morda zavirajo intrinzično apoptotsko pot. Za razliko od čistih HCA in njihovih zmesi pa je GME povečal aktivnost kaspaz 3 in 7 in ni povečal izražanja *BCL-2*.

Nekatere prehranske učinkovine zavirajo genotoksično aktivnost HCA, ena teh je v hmelju in pivu prisoten ksantohumol (XN). Pri HepG2 celicah je XN popolnoma zavrl s HCA povzročene poškodbe DNA. Analiza sprememb izražanja genov pri hkratnem tretiranju HepG2 celic s HCA in XN je pokazala izrazito povečanje izražanja *UGT1A1*, kar nakazuje, da je detoksifikacija z UDP-glukuronoziltransferazo pomemben mehanizem zaščitnega delovanja XN.

Dobljeni rezultati sprememb izražanja presnovnih genov in *CDKN1A* so jasno pokazali sinergistično delovanje HCA v zmesi in v GCE. To kaže, da o genotoksičnem in karcinogenem potencialu HCA v zmesih, kakršnim smo izpostavljeni pri uživanju pečenega mesa, ni možno sklepati zgolj na osnovi aktivnosti posameznih HCA. Upoštevati je treba njihovo sinergistično delovanje. Izsledki o mehanizmu delovanja, XN proti genotoksičnosti HAA pa doprinašajo nove podatke, ki bodo v pomoč pri oceni njegove kemoprevencijske učinkovitosti pri ljudeh.

ANG

Dietary factors play a crucial role in the aetiology of cancer in humans including two categories: cancer-producing and cancer preventing. Meat processing at high temperatures generates formation of carcinogenic heterocyclic aromatic amines (HCA). Although in vitro and in vivo experimental data confirm their genotoxic and potential carcinogenic activity, accurate risk assessment upon exposure to low doses in complex mixtures is not possible without knowing their mode of action. We showed that pure HCA (IQ, DiMeIQx, MeIQx and PhIP), in metabolically active HepG2 cells induce DNA damage, but not micronuclei. The grilled meat extracts (GME) with defined quantity and composition of HCAs did not induce DNA damage, while formation of micronuclei was induced by grilled chicken extract (GCE). The studies of the effects on differential gene expression of the

metabolic enzymes showed that pure HCAs, their mixtures and GCE induced up-regulation of the expression of CYP1A1 and CYP1A2 responsible for the activation of HCA and UGT1A1 responsible for detoxification. Quantitative analysis of the differential expression of metabolic genes showed pronounced synergistic effects of mixtures of HCA and GCE. The studies of the effects of pure HCAs on differential expression of genes involved in response to DNA damage (*P53*, *CDKN1A*, *GADD45 $\alpha$* , *MDM2*) showed up-regulation of *CDKN1A* and *GADD45 $\alpha$* , that confirm genotoxic activity of HCA. The effect of mixtures of HCA and GCE on the expression of *CDKN1A* was also synergistic. In organisms apoptosis is an important protective mechanism against cancer initiation and progression. Pure HCAs, their mixtures and GCE did not affect activity and gene expression of the effector caspases 3 and 7 and proapoptotic gene *BAX*, while they up-regulated expression of the anti-apoptotic gene *BCL-2*. These are new findings indicating that HCA might suppress intrinsic apoptotic pathway. On the contrary to pure HCA and their mixtures GCE increased the activity of caspases 3 and did not up-regulate *BCL-2*.

Certain dietary factors suppress genotoxic activity of HCAs, one such is the ingredient of hops and beer, xanthohumol (XN). In HepG2 cells XN completely prevented formation of HCAs induced DNA damage. The gene expression analysis after the simultaneous treatment of HepG2 cells with XN and HCA showed significant up regulation of the expression of *UGT1A1*, indicating that detoxification by UDP-glucotonyltransferase is an important mechanism of XN mediated protection.

The results of the differential expression of metabolic genes and *CDKN1A* showed clear synergistic activity of HCA in mixtures and GCE. This means that it is not possible to predict genotoxic potential of HCA in mixtures on the basis of the activity of single HCA. Synergistic effect should be taken into account. The new findings on the mechanisms of protective effect of XN against genotoxicity of HCA contribute new information that will enable assessment of its chemoprotective effectiveness in humans.

#### 4. Poročilo o realizaciji predloženega programa dela na raziskovalnem projektu<sup>3</sup>

Prehranski dejavniki imajo odločilno vlogo v etiologiji raka pri ljudeh. Delimo jih lahko v dve skupini: povzročitelje raka in preprečevalce raka. Priprava živil pri visokih temperaturah povzroči nastanek različnih genotoksičnih snovi, zato prihaja do vse večje zaskrbljenosti kako te snovi vplivajo na zdravje ljudi. Čeprav tako in vitro, kot tudi in vivo eksperimentalni podatki potrjujejo genotoksično in karcinogeno delovanje teh snovi, pa natančna ocena tveganja pri izpostavljenosti nizkim dozam v kompleksnih zmesih ni mogoča brez poznavanja njihovega načina delovanja.

Namen projekta je bil razjasniti nekatere mehanizme genotoksičnega in potencialno karcinogenega delovanja heterocikličnih aromatskih aminov (HCA) pri pogojih, ki so relevantni za izpostavljenost ljudi. Proučevali smo a) z nastankom raka povezane učinke in molekularne mehanizme delovanja posameznih HCA (*IQ*, *DiMeIQx*, *MeIQx*, *PhIP*) in jih primerjali z učinki njihovih kompleksnih zmesi v ekstraktih pečenega mesa (GME) z definirano količino in sestavo HCA, in b) mehanizme zaščitnega delovanja ksantohumola (preniliranega flavonoida, ki je prisoten v hmelju in pivu, za katerega so predhodne raziskave pokazale, da izredno učinkovito zavira genotoksične učinke nekaterih prehranskih karcinogenov, vključno s HCA).

Za potrebe raziskav smo pripravili ekstrakte iz mesa (piščančjega, prašičjega in govejega) pečenega na dvoploščnem žaru pri nadzorovanih pogojih pečenja (pri temperaturi 230 °C do središčne temperature 80 °C). Iz tako pripravljenih vzorcev smo pripravili ekstrakte, in sicer ločeno iz zapečene skorje in sredice. Vsebnosti posameznih HCA v posameznih ekstraktih smo kvantificirali in jih pripravili za nadaljnje testiranje. Ekstrakt piščančjega mesa je vseboval največ HCA, sledil je ekstrakt prašičjega mesa, najmanjšo vsebnost HCA pa je vseboval ekstrakt govejega mesa. Kot smo pričakovali je bilo pri vseh treh vrstah mesa relativno največ PhIP, sledil je MeIQx in DiMeIQx, čeprav so se razmerja med vrstami pečenega mesa nekoliko razlikovale. Vzorci sredic niso vsebovali zaznavnih količin HCA. Potrdili smo, da vzorci niso vsebovali akrilamida, ki bi lahko vplival na rezultate toksikoloških testiranje.

V prvi fazi testiranja smo določili mutageno aktivnost posameznih HCA v primerjavi z ekstrakti pečenega mesa z znanimi koncentracijami heterocikličnih aminov v testnem sistemu z bakterijo *S. typhimurium* sev TA98 v prisotnosti metabolične aktivacije. Rezultati testiranja GME so pokazali, od doze odvisno povečanje števila revertantov, pri čemer je bil najaktivnejši ekstrakt piščančjega mesa, najmanj pa svinjskega. Mutagena aktivnost ekstraktov mesa je bila manjša, kot bi pričakovali na osnovi izmerjene indukcije revertantov posameznih HCA kar, kaže, da v bakterijskem testnem sistemu z eksogeno aktivacijo pride do antagonističnega delovanja zmesi HCA v ekstraktih, ali pa so prisotne neidentificirane komponente, ki zavirajo mutageno aktivnost HCA. Ekstrakti sredice, kjer so bile koncentracije HCA pod mejo zaznavanja so rahlo povečali število revertantov le pri najvišji testirani količini 10 µl/ploščo.

Genotoksično aktivnost čistih HCA in GME smo nato ugotavljali v testnem sistemu z metabolno aktivnimi jetrnimi celicami HepG2. V primerjavi z bakterijskim testnim sistemom, kjer smo indukcijo mutacij zaznali pri nanogramskih koncentracijah čistih HCA, so bile za opazne učinke v HepG2 celicah potrebne več kot 100 mikrogramske koncentracije. S testom komet smo pokazali, da pri ne-citotoksičnih koncentracijah PhIP, IQ in MeIQx v celicah HepG2 povzročajo rahlo povečanje poškodb DNA, medtem, ko diMeIQx ni povzročil poškodb DNA. Nobeden od testiranih čistih HCA pa ni povzročil tvorbe mikrojedr v HepG2 celicah. Ta rezultat ni nepričakovan, saj so številne dosedanje raziskave pokazale nasprotujoče si rezultate glede povzročanja poškodb DNA in tvorbe mikrojedr HCA v *in vitro* sesalčjih testnih sistemih. Za razliko od čistih HCA nobeden od GME ni povzročil poškodb DNA, medtem, ko je tvorbo mikrojedr povzročil le ekstrakt piščančjega mesa. Slednje kaže na možen sinergizem med HCA, ali pa prisotnost neidentificiranih genotoksičnih snovi v piščančjem mesu.

Toksikogenomske raziskave so veliko doprinesle k boljšemu razumevanju mehanizmov genotoksičnih učinkov na molekularni ravni in do neke mere že omogočajo napovedovanje karcinogenega potenciala neznanih spojin. Primerjalna analiza proteomskih sprememb pri celicah tretiranih z ekstraktom pečene svinjine, govedine oz. piščanca je pokazala, največ spremenjeno izraženih proteinov pri ekstraktu piščanca (15 proteinov), sledila sta ekstrakt govedine (6 proteinov) in svinjine (1 protein), kar sovпада z količino HCA v različnih GME. Nadalje smo ugotovili, da ima MeIQx na proteom večji vpliv kot PhIP.

Velik del raziskav smo osredotočili na vplive čistih HCA, njihovih zmesi ter GME na izražanje genov vpletenih v presnovo HCA, kar je pomembno za razumevanje dinamike procesov aktivacije in detoksifikacije, ki pomembno vplivajo na končni

genotoksični učinek, ter izražanje genov, ki so vpleteni v celični odziv na poškodbe DNA in apoptozo, ki jih lahko smatramo za zgodnji pokazatelj genotoksičnega delovanja in njegovega mehanizma. Rezultati vpliva čistih HCA, njihovih zmesi in GME na spremembe izražanja presnovnih genov so pokazali, da vsi povzročajo povečano izražanje *CYP1A1* in *CYP1A2*, ki sta odgovorna za prvo stopnjo aktivacije HCA in povečano izražanje *UGT1A1*, ki je odgovoren za detoksifikacijo HCA. Kvantitativna analiza sprememb izražanja metabolnih genov je pokazala močan sinergistični učinek zmesi HCA in GME.

Raziskave vpliva čistih HCA na izražanje izbranih genov, ki se odzivajo na poškodbe DNA (*P53*, *CDKN1A*, *GADD45 $\alpha$* , *MDM2*) so pokazale predvsem povečano izražanje mRNA *CDKN1A* in v nekoliko manjši meri tudi *GADD45 $\alpha$* , ki se specifično odzivata na poškodbe DNA, kar potrjuje genotoksično delovanje HCA. Povečano izražanje P53 smo zaznali le na ravni proteina, kar se sklada z njegovo aktivacijo na post translacijski ravni. Zmesi HCA in GME so podobno, kot pri metabolnih genih tudi na izražanje *CDKN1A* vplivale sinergistično. Ti rezultati jasno kažejo, da o končni genotoksični aktivnosti HCA v zmesih, kakršnim smo izpostavljeni prek uživanja pečenega mesa ni mogoče sklepati le na osnovi aktivnosti posameznih HCA, ampak je treba upoštevati njihovo sinergistično delovanje.

Vpliv HCA na celični cikel in apoptozo je zelo slabo raziskan. Ugotovili smo, da čisti HCA, njihove zmesi in GME ne vplivajo na celični cikel, permeabilnost mitohondrijske membrane, ne povzročajo povečanega števila mrtvih apoptotskih celic in zmanjšajo aktivnost kaspaz 3 in 7. Čisti HCA, ter zmesi HCA tudi niso vplivali na izražanja genov kaspaz 3 in 7 in proapoptotskega gena *BAX*, povečali pa so izražanje antiapoptotskega gena *BCL-2*. To so novi izsledki, ki nakazujejo, da HCA in njihove zmesi morda zavirajo intrinzično apoptotsko pot. GME je pokazal drugačno delovanje od čistih HCA in zmesi: aktivnost kaspaz 3 in 7 je povečal in ni zmanjšal izražanja antiapoptotskega gena *BCL-2*. To nakazuje, da so v GME prisotne neidentificirane snovi s proapoptotsko aktivnostjo. Apoptoza je zelo pomemben mehanizem zaščite organizmov pred nastankom in razvojem raka. V celicah z nepopravljenimi poškodbami DNA se lahko sproži apoptoza ali pa preživijo z mutacijami. Slednje lahko sprožijo proces karcinogeneze. Naše raziskave so pokazale, da HCA verjetno zavirajo apoptozo, kar pomeni, da bodo imele celice s poškodovano DNA večjo verjetnost preživetja in mutiranja, kar je mehanizem, ki lahko prispeva k karcinogenosti HCA, ki do sedaj še ni bil opisan.

Več predhodnih raziskav, vključno z našimi, je pokazalo, da ksantohumol (XN), preniliran flavonoid hmelja, učinkovito zavira genotoksično aktivnost mutagenov, ki potrebujejo metabolično aktivacijo, med katere spadajo tudi HCA. Predpostavljalo se je, da je mehanizem zaščitnega delovanja zaviranje metabolne aktivacije pro-mutagenov. Potrdili smo, da pri HepG2 celicah ksantohumol popolnoma zavre s HCA povzročene poškodbe DNA že pri nanomolarnih koncentracijah. Z analizami sprememb izražanja genov encimov vpletenih v presnovo HCA v celicah izpostavljenih HCA skupaj z XN, pa smo pokazali, da je pomemben mehanizem zaščitnega delovanja XN pred genotoksičnostjo HCA tudi povečano izražanje *UGT1A1* in s tem učinkovitejša detoksifikacija. Ti izsledki so potrdili dokaze o učinkovitem kemoprevencijskem delovanju XN proti genotoksičnosti HCA in doprinašajo nove podatke o mehanizmu delovanja, ki bodo v pomoč pri oceni kemoprevencijske učinkovitosti pri ljudeh.

##### **5. Ocena stopnje realizacije programa dela na raziskovalnem projektu in zastavljenih raziskovalnih ciljev<sup>4</sup>**

Cilje naloge smo realizirali v skladu z načrtom uresničevanja raziskovalnih ciljev.

Pri kontroliranih pogojih pečenja smo pripravili ekstrakte piščančjega, prašičjega in govejega mesa za biološka testiranja, ter določili vsebnosti posameznih HCA. Izvedli smo primerjalno testiranje genotoksičnosti čistih HCA: PhIP, IQ, MeIQx in diMeIQx, zmesi teh HCA in mesnih ekstraktov s testnim sistemom s *S. typhimurium* in s celicami HepG2. S proteomskimi analizami smo pri HepG2 celicah tretiranih z ekstrakti mesa ali čistimi HCA pokazali, da obseg sprememb izražanja proteinov sovпада z količino HCA v ekstraktih, ter da MeIQx povzroči večje spremembe proteoma kot PhIP.

Na osnovi analiz diferencialnega izražanja genov pod vplivom HCA smo pokazali, da je genotoksična aktivnost in vpliv na izražanje genov, ki se odzivajo na poškodbe DNA, različnih HCA, povezana z njihovim vplivom na povečano izražanje presnovnih genov, ter da verjetno zavirajo apoptozo. Raziskave vplivov zmesi HCA ter ekstraktov pečenega mesa z definirano skupno količino in količino posameznih HCA so pokazale izrazito sinergistično delovanje na izražanje genov presnovnih encimov in posledično tudi genov, ki se odzovejo na poškodbe DNA. Raziskave sprememb izražanja genov in genotoksične aktivnosti HCA v prisotnosti ksantohumola pa so pokazale, da je mehanizem zaščitnega delovanja ksantohumola povezan z povečanim izražanjem UDP – glukoaronoziltransferaza. Objavljen je bil en članek v reviji Food and chemical toxicology, dva pa sta poslana v recenzijo.

#### 6. Utemeljitev morebitnih sprememb programa raziskovalnega projekta oziroma sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine<sup>5</sup>

Večjih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta ni bilo.

V zadnjem letu v projekti skupini nista sodelovala dva člana. Eden je pridobil svoj podoktorski projekt in več sodeloval, ena sodelavka, ki je bila vključena kot tehnična pomoč pa v letu 2012 sodelovala, ker to ni bilo več potrebno.

#### 7. Najpomembnejši znanstveni rezultati projektne skupine<sup>6</sup>

Znanstveni dosežek			
1.	COBISS ID	1963343	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Zaščitni učinki piva in njegovih sestavin
		ANG	Protective effects of beer and its constituents
	Opis	SLO	V knjigi Kemoprevencija raka in poškodb DNA s prehranskimi dejavniki smo prispevali pregledno poglavje, kjer so opisane sestavine piva ter njihovo potencialno zaščitno delovanje pri preprečevanju raka. V prestižni reviji The Lancet je knjiga zelo dobro ocenjena in jo priporočajo znanstvenikom na področjih prehrane in farmakologije raka ter svetovalcem na področju zdravstva in prehranske industrije, ker vsebuje relevantne, praktične in dovolj kritične podatke o vseh ključnih zadevah, ki se nanašajo na pravnico raka s pomočjo prehranskih dejavnikov.
		ANG	To the book Chemoprevention of cancer and DNA damage by dietary factors we contributed a chapter on Protective effects of beer and its constituents. In the prestigious journal The Lancet the book has been very well appreciated and has been warmly recommended to scientists in the field of nutrition and cancer pharmacology and to decision makers and opinion leaders in health authorities and the food industry, because it provides relevant, practical, and wellbalanced information on all matters relating to cancer prevention by dietary factors.



	Objavljeno v	Wiley-VCH; Chemoprevention of cancer and DNA damage by dietary factors; 2009; str. 648-661; Avtorji / Authors: Filipič Metka, Plazar Janja, Arimoto-Kobayashi Sakae	
	Tipologija	1.16 Samostojni znanstveni sestavek ali poglavje v monografski publikaciji	
2.	COBISS ID	3635832	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Proučevanje tvorbe heterocikličnih aminov (HCA) v toplotno obdelanem piščančjem mesu
		ANG	Effects of skin and grilling method on formation of heterocyclic amines in chicken pectoralis superficialis muscle
	Opis	SLO	Ugotovili smo, da je vsebnost HCA odvisna od prisotnosti kože in metode toplotne obdelave. Še več, nastanek HCA je v primeru neposrednega prenosa toplote obsežnejši v odsotnosti kože. Pomembna je tudi ugotovitev, da z izbiro ustrezne metode toplotne obdelave piščančjega mesa lahko zmanjšamo nastanek HCA. Torej je vnos HCA v telo mogoče zmanjšati z uživanjem pečenega piščančjega mesa, vendar je potrebno kožo zavreči le v primeru, če je bilo meso pripravljeno z IR žarom.
		ANG	The contents of the HCAs are dependent on the presence of the skin and the method of grilling, with the formation HCAs seen to be extensive in the absence of the skin and with direct heat transfer. The choosing of an appropriate method of thermal treatment of chicken meat to minimize the formation of HCAs is one of the most important issues. Thus, the intake of HCAs from grilled chicken can be reduced by not consuming the skin only in the case of infrared grilling.
	Objavljeno v	Academic Press; Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie; 2009; Vol. 42; str. 1313-1319; Impact Factor: 2.114; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.209; A': 1; WoS: JY; Avtorji / Authors: Demšar Lea, Lukan Bojan, Žlender Božidar, Polak Tomaž	
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek	
3.	COBISS ID	2240591	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Preventivno delovanje ksantohumola proti poškodbam DNA in raku povzročnim z mutagenom pečenega mesa.
		ANG	Preventive potential of xanthomol against DNA damage and cancer induced by the cooked food mutagen
	Opis	SLO	Ksantohumol (XN), preniliran flavonoid hmelja, ki je v pivu kaže zelo obetavne preventivne lastnosti proti nastanku raka, ki pa so bile do sedaj raziskane le in vitro. V tej in vivo raziskavi smo pokazali, da pri podganah dodatek XN hrani zavre z amino3methylimidazo[4,5f] quinoline (IQ) povzročene poškodbe DNA hepatocit in kolonocit in tvorbo predrakavih sprememb v jetrih in na črevesu. Ker smo učinke zaznali pri nizkih odmerkih XN, kakršne dosežemo pri uživanju z XN obogatene piva, so naši izsledki lahko relevantni tudi za ljudi.
		ANG	Xanthohumol (XN) is a hop derived prenylated flavonoid contained in beer that shows promising chemopreventive properties that have been so far studied in the in vitro experiments. In this in vivo study we showed that dietary supplementation of rats by XN suppress amino3methylimidazo[4,5f] quinoline (IQ) induced DNA damage in colonocytes and hepatocytes and formation of preneoplastic foci in livers and colons of rats. Since the effects were observed with low doses of XN which are reached after consumption of brews with high XN levels, our findings may be relevant for humans.
	Objavljeno v	Elsevier; Mutation Research; 2010; Issue 1-2, Vol. 691; str. 17-22; Impact Factor: 3.204; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.584; A': 1; WoS: DB, KM, YO; Avtorji / Authors: Ferik Francizka, Huber Wolfgang W., Filipič Metka, Bichler Julia, Heslinger Elisabeth, Mišik	

		Miroslav, Nersesyan Armen, Grasl-Kraupp Bettina, Žegura Bojana, Knasmüller Siegfried
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
4.	COBISS ID	2210383 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Analiza podatkov genskih ekspresij ANG Gene expression data analysis
	Opis	SLO V članku je predstavljen pristop k analizi podatkov z uporabo mikromrež diskretiziranih izraženih vrednosti v kombinaciji z metodologijo rudarjenja RelSets. Pristop je bil potrjen na dveh neodvisnih setih poskusov z dvobarvnimi mikromrežami na rastlinah krompirja. Naši rezultati kažejo, da sta dva različna analitična postopka, ki se uporabljajta na istih podatkih, primeren pristop za reševanje v dveh različnih bioloških vprašanj. Uporabljeni algoritmi so brezplačno na voljo. ANG This article presents an approach to microarray data analysis using discretised expression values in combination with a methodology of closed itemset mining for class labeled data (RelSets). The approach was validated on two independent sets of twocolor microarray experiments using potato plants. Our results demonstrate that the two different analytical procedures, applied on the same data, are adequate for solving two different biological questions being asked. The used algorithms are freely available upon request to the authors.
	Objavljeno v	Mary Ann Liebert; Omics.; 2010; Vol. 14, no. 2; str. 177-186; Impact Factor: 1.944; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.772; WoS: DB, KM; Avtorji / Authors: Rotter Ana, Kralj Novak Petra, Baebler Špela, Toplak Nataša, Blejec Andrej, Lavrač Nada, Gruden Kristina
	Tipologija	1.01 Izvirni znanstveni članek
5.	COBISS ID	2470223 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Zaščitno delovanje ksantohumola proti genotoksičnosti heterocikličnih aminov PhIP in MeIQx v testnem sistemu z bakterijami in celicami človeškega hepatoma (HepG2). ANG Protective effects of xanthohumol against the genotoxicity of heterocyclic aromatic amines MeIQx and PhIP in bacteria and in human hepatoma (HepG2) cells
	Opis	SLO V tej raziskavi smo pokazali, da ksantohumol ni mutagen za bakterije <i>S. typhimurium</i> TA98 in ni povzročil genomske nestabilnosti pri celicah človeškega hepatoma HepG2. Pri bakterijah je, v odvisnosti od doze, zavrl nastanek mutacij povzročenih z 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]pyridin-om (PhIP) and 2-amino-3,8 dimethylimidazo[4,5-f]quinoxalin-om (MeIQx), pri HepG2 celicah pa popolnoma zavrl z MeIQx in PhIP povzročene poškodbe DNA že pri nanomolarnih koncentracijah. Z QRT-PCR analizo izražanja genov glavnih encimov vpletenih v presnovo HAA smo ugotovili, da XN v celicah HepG2 poveča izražanje encimov I faze presnove (CYP1A1 in 1A2) in II faze presnove (UGT1A1). Nadaljnje analize sprememb izražanja v celicah izpostavljenih MeIQx oz. PhIP skupaj z XN so pokazale, da je pomemben mehanizem zaščitnega delovanja XN pred genotoksičnostjo HCA povečano izražanje UGT1A1. Ti izsledki potrjujejo dokaze o učinkovitem kemoprevencijskem delovanju XN proti genotoksičnosti HCA in doprinašajo nove podatke o mehanizmu delovanja, ki bodo v pomoč pri oceni kemoprevencijske učinkovitosti pri ljudeh. ANG In this study, we showed that XN was not mutagenic in <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 and did not induce genomic instability in human hepatoma HepG2 cells. In the bacteria XN suppressed the formation of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]pyridine (PhIP) and 2-amino-3,8 dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx) induced mutations in a dose



	ANG	dependent manner and in HepG2 cells it completely prevented PhIP and MeIQx induced DNA strand breaks at nanomolar concentrations. With the QRT-PCR gene expression analysis of the main enzymes involved in the biotransformation of HAAs in HepG2 cells we found that XN upregulates the expression of phase I (CYP1A1 and CYP1A2) and phase II (UGT1A1) enzymes. Further gene expression analysis in cells exposed to MeIQx and PhIP in combination with XN revealed that XN mediated up-regulation of UGT1A1 expression may be important mechanism of XN mediated protection against HAAs induced genotoxicity. Our findings confirm the evidence that XN displays strong chemopreventive effects against genotoxicity of HAAs, and provides additional mechanistic information to assess its potential chemopreventive efficiency in humans.
Objavljeno v		Elsevier; Food and chemical toxicology; 2012; Vol. 50, issues 3-4; str. 949-955; Impact Factor: 2.999; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 1.379; A': 1; WoS: JY, YO; Avtorji / Authors: Viegas Olga, Žegura Bojana, Pezdirc Marko, Novak Matjaž, Ferreira Isabel, Pinho Olivia, Filipič Metka
Tipologija		1.01 Izvirni znanstveni članek

### 8. Najpomembnejši družbeno-ekonomski rezultati projektne skupine<sup>7</sup>

	Družbeno-ekonomski dosežek	
1.	COBISS ID	3721592 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Vabljen predavanje naših članov o vlogi mineralov v tehnologiji mesa na BZD 2009
		ANG Invited lectures on meat and meat products as a source of biologically important minerals (BZD 2009)
	Opis	SLO Na predavanju smo predstavili kemijsko sestavo mesa in nekaterih mesnih izdelkov, s poudarkom na vsebnosti skupnih anorganskih snovi oziroma mineralov. Meso in mesne izdelke lahko pojmujeemo kot izvor biološko pomembnih mineralov predvsem zaradi boljše izkoristljivosti nekaterih mikro elementov, kot so železo, cink in selen. V primerjavi z drugimi živili pa meso vsebuje malo natrija, klora, joda, fosforja in je tudi slab vir sicer zelo potrebnega kalcija.
		ANG Authors presented the chemical composition of meat and certain meat products, with emphasis on the content of minerals. Meat and meat products can be considered as a source of biologically important minerals mainly due to better bioavailability of some microelements such as iron, zinc and selenium. In comparison with other foods meat as such is relatively poor in sodium, chlorine, iodine, phosphorus, and is very poor source of necessary calcium.
	Šifra	B.04 Vabljen predavanje
	Objavljeno v	Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo; Vloga mineralov v živilski tehnologiji in prehrani; 2009; Str. 157-169; Avtorji / Authors: Žlender Božidar, Demšar Lea, Polak Tomaž
	Tipologija	1.06 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci (vabljen predavanje)
2.	COBISS ID	2328399 Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO Celični sistem za hitro zaznavanje in določanje genotoksičnosti
		ANG Cell system for rapid detection of genotoxicity
		Predmet izuma je metoda za določanje genotoksičnosti kemikalij in drugih vzorcev in celični sistem za to uporabo. Izum opisuje biosenzorski sistem za

	Opis	SLO	zaznavanje poškodb DNA v metabolno aktivnih celicah v kulturi. Problem, ki ga rešuje izum je metoda, ki omogoča hitro in natančno merjenje genotoksičnosti s pomočjo spektrofluorimetra za mikrotiterske plošče. Biosenzorski sistem sestavljajo metabolno aktivne celice transfecirane s konstruktom z reporterskim genom za fluorescentni DsRed2 protein operativno vezan na operativno regijo promotorja gena p21, ki se specifično odzove na poškodbe DNA.
		ANG	The invention relates to a method for determining genotoxicity of an agent and a cell based system useful therefore. In particular, the invention describes a biosensor system for detecting DNA damage in metabolically competent cell cultures. The problem the invention solves is rapid and sensitive measurement of genotoxicity using microtiterplate spectrofluorimeter. The assay system uses p53 competent, metabolically active HepG2 cells stably transfected with plasmid containing the DsRed reporter system under the control of p21 gene that is specifically upregulated in response to DNA damage.
	Šifra	F.06 Razvoj novega izdelka	
	Objavljeno v	Urad RS za intelektualno lastnino; 2011; 20 str.; Avtorji / Authors: Filipič Metka, Lah Turnšek Tamara, Hreljac Irena, Čemažar Maja, Serša Gregor, Žager Valerija, Kamenšek Urška	
	Tipologija	2.24 Patent	
3.	COBISS ID	2364239	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Znanstveno menje o polibromiranih bifenilih (PBBji) v hrani
		ANG	Scientific Opinion on polybrominated biphenyls (PBBs) in food
	Opis	SLO	Evropska komisija je zaprosila Evropsko avtoriteto za varno hrano za znanstveno mnenje o tveganjih za zdravje ljudi zaradi prisotnosti različnih tipov polibromiranih zaviralcev gorenja v hrani. Mnenja pripravi delovna skupin ekspertov v katero sem bila imenovana. Moja naloga je priprava kritičnega pregleda dostopnih podatkov o učinkih, ki so povezani z genotoksičnostjo, teratogenostjo in vplivi na hormonsko ravnovesje. Sprejetih in objavljenih je bilo šest mnenj (PBDE, PBB, HBCDD; TBBPA, HBCDD in novo pojavljajoči BFR). Vsa mnenja so javno dostopna na: <a href="http://www.efsa.europa.eu/en/publications.htm">http://www.efsa.europa.eu/en/publications.htm</a> .
		ANG	European Commission asked the European Food Safety Authority for a scientific opinions on the risks to human health related to the presence of different classes of polybrominated flame retardants in food. The opinions are prepared by the working group of experts to which I have been appointed. My role was to prepare critical overview of the available information on genotoxicity, teratogenicity and hormone homeostasis disturbances related effects. Six opinions were adopted and published (PBDEs, PBBs, HBCDDs; TBBPAs, HBCDDs and new emerging BFRs). All published opinions are public available at: <a href="http://www.efsa.europa.eu/en/publications.htm">http://www.efsa.europa.eu/en/publications.htm</a> .
Šifra	D.03 Članstvo v tujih/mednarodnih odborih/komitejih		
Objavljeno v	European Food Safety Authority; 2010; 151 str.; Avtorji / Authors: Alexander Jan, Filipič Metka		
Tipologija	2.13 Elaborat, predštudija, študija		
4.	COBISS ID	2649679	Vir: COBISS.SI
	Naslov	SLO	Nanoživila - nove priložnosti, dileme, potrošniki, zakonodaja
		ANG	Nanofood - new opporunities, dilemas, consumers and regulation
			Na strokovnem posvetu 27. Bitenčevi živilski dnevi 2012, ki jih vsako leto organizira, Biotehniška fakulteta, Katedra za živilstvo, sem na njihovo željo predstavila potencialne koristi, ki jih nanotehnologije v živilstvu nedvomno

Opis	SLO	imajo ter morebitna tveganja, ki pa jih je potrebno še prepoznati in ovrednotiti. Izpostavila sem tudi odnos potrošnikov do uporabe teh tehnologij ter predstavila sedanjo zakonodajno regulativo na tem področju. Predavanje je bilo izjemo dobro sprejeto in odmevno.	
	ANG	At the conference 27th Food Technology Days 2012, which is every year organized by Biotechnical faculty, Chair for Food technology I presented potential benefits that nanotechnologies definitely offer as well as potential risks that still have to be identified and quantified. I stressed out also the consumers perception on these technologies and presented current regulative in this field. The lecture was very well accepted.	
Šifra	B.04 Vabljen predavanje		
Objavljeno v	Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo; Nanotehnologije in nanoživila; 2012; Str. 11-22; Avtorji / Authors: Filipič Metka		
Tipologija	1.06 Objavljeni znanstveni prispevek na konferenci (vabljen predavanje)		
5. COBISS ID	2648911	Vir: COBISS.SI	
Naslov	SLO	Prevenција raka	
	ANG	Cancer chemoprevention	
Opis	SLO	Posebna izdaja revije Journal of Biomedicine and Biotechnology je bila posvečena predstavitvi izvornih in preglednih člankov, ki bi prispevali k boljšemu razumevanju molekularnih mehanizmov naravnih produktov pri preprečevanju raka.	
	ANG	Special issue of the Journal of Biomedicine and Biotechnology was dedicated to presentation of original and review articles that will stimulate the continuing efforts that lead to a better understanding of the molecular mechanism underlying natural-product-based chemoprevention against any type of cancer.	
Šifra	C.03 Vabljeni urednik revije (guest-associated editor)		
Objavljeno v	Däär al-Našr al-Ilikträunäi; Journal of Biomedicine and Biotechnology (Online); 2012; Vol. 2012, no. 250491; str. 1-2; Impact Factor: 2.436; Srednja vrednost revije / Medium Category Impact Factor: 2.822; WoS: DB, QA; Avtorji / Authors: Amin Amr, Filipič Metka, Chen Su S., Schneider-Stock Regine		
Tipologija	1.03 Kratki znanstveni prispevek		

## 9. Drugi pomembni rezultati projektne skupine<sup>8</sup>

Prof. dr. Metka Filipič koordinira EU FP7 projekt "Usoda in učinki ostankov citostatskih zdravil v okolju in identifikacija bioloških pokazateljev za boljšo oceno tveganj pri izpostavljenosti okolja" (CytoThreat). Projekt se osredotoča na razvoj analitskih metod za detekcijo ostankov citostatikov in njihovih produktov razgradnje v okolju, identifikacijo zgodnjih toksikoloških pokazateljev učinkov citostatikov na vodne organizme ter na pridobitev ekotoksikoloških podatkov potrebnih za oceno tveganj. V okviru projekta sodeluje devet partnerjev iz šestih držav. Celotna vrednost tega štiriletnega projekta (2011 – 2014) je okrog 3.3 MIO EUR, Evropska komisija pa ga sofinancira v višini okrog 2.5 MIO EUR. Pri prijavi projekta Cytothreat je bil uspešno implementiran pristop uporabljen v pričujočem projektu.

## 10. Pomen raziskovalnih rezultatov projektne skupine<sup>9</sup>

### 10.1. Pomen za razvoj znanosti<sup>10</sup>

SLO

Karcinogeni heterociklični aromatski amini (HCA) nastanejo v pečenem mesu in se jim pri uživanju mesa ne moremo izogniti. Namen tega interdisciplinarnega projekta je bil pojasniti molekularne mehanizme delovanja HCA, pri pogojih dejanske izpostavljenosti za katero je značilna izpostavljenost kompleksni zmesi različnih HCA in hkrati tudi izpostavljenost drugim bioaktivnim snovem, ki lahko bodisi povečajo ali pa zmanjšajo škodljive učinke HCA. Rezultati so pokazali da HCA pri HepG2 celicah povzročajo poškodbe DNA, na molekularni ravni pa vplivajo na spremembe izražanja genov presnovnih encimov in genov vpletenih v odziv na poškodbe DNA in apoptozo. Na osnovi kvantifikacije molekularnih odzivov smo ugotovili, da zmesi HCA, kot tudi ekstrakt pečenega mesa (pripravljen pod kontroliranimi pogoji in z definirano količino in sestavo HCA) delujejo izrazito sinergistično tako na izražanje genov presnovnih encimov, kot genov vpletenih v odziv na poškodbe DNA. To je pomembna nova ugotovitev, ki pomeni, da ocenjevanje tveganja za zdravje ljudi na osnovi podatkov o učinkih posameznih HCA tveganje lahko podcenjuje. Potrebno je razviti modele, ki bodo sinergizem upoštevali. Na osnovi sprememb aktivnosti in izražanja genov proteinov vpletenih v proces apoptoze smo ugotovili, da HCA verjetno zavirajo intrinzično pot apoptoze. Ta ugotovitev, nakazuje, da je inhibicija apoptoze lahko mehanizem, ki pripomore k kancerogenemu delovanju HCA, vendar do sedaj še ni bil raziskan.

Več predhodnih raziskav, vključno z našimi, je pokazalo, da ksantohumol (XN), preniliran flavonoid hmelja, učinkovito zavira genotoksično aktivnost genotoksinov, ki potrebujejo metabolično aktivacijo, med katere spadajo tudi HCA. Predpostavljalo se je, da je mehanizem zaščitnega delovanja XN zaviranje metabolne aktivacije pro-mutagenov. Potrdili smo, da pri HepG2 celicah ksantohumol popolnoma zavre s HCA povzročene poškodbe DNA že pri nanomolarnih koncentracijah. Z analizami sprememb izražanja genov encimov vpletenih v presnovo HCA pri hkratni izpostavljenosti HCA in XN pa smo prvi pokazali, da je pomemben mehanizem zaščitnega delovanja XN pred genotoksičnostjo HCA aktivacija detoksifikacije z UDP-glucuronosyltransferazo. V sodelovanju s kolegi iz Medicinske Univerze na Dunaju, smo zaščitno delovanje XN proti karcinogenosti HCA potrdili tudi pri podganah. Rezultati teh raziskav so odprli vrata nadaljnjim raziskavam kemoprevencijske aktivnosti XN pri ljudeh, ki bodo lahko vključevale tudi prostovoljce.

ANG

Carcinogenic heterocyclic aromatic amines (HCA) are readily formed in grilled meat and when eating meat we cannot avoid exposure to these carcinogens. The aim of this interdisciplinary project was to elucidate the molecular mechanisms of the activity HCAs at the conditions of actual exposure that typically involves exposure to complex mixtures of different HCAs and concurrent exposure to other bioactive compounds that may increase or suppress the adverse effects of HCAs. The results showed that in HepG2 cells HCAs induce DNA damage, while at the molecular level they modulate expression of genes encoding for metabolic enzymes, DNA damage responsive genes and apoptotic genes. Quantification of the molecular responses showed that mixtures of HCAs as well as the extracts of grilled meat (prepared under controlled conditions and with defined content and composition of HAAs) act synergistically on the expression of metabolic genes as well as DNA damage responsive genes. This is important new finding, which indicates that risk assessment for human health based on the effects of single HCA may underestimate the risk. New models should be developed that will take synergism into account. Based on the pattern of the differential expression of apoptotic genes we found that HCA may suppress intrinsic apoptotic pathway. This indicates that inhibition of apoptosis may be a mechanism that contributes to carcinogenic activity of HCAs, which remains to be explored.

Several previous studies, including ours, showed that xanthohumol (XN), the prenylated flavonoid of hops, efficiently suppress genotoxic activity of indirect acting genotoxins, to which belong also HCAs. The analysis of the changes in gene expression of the enzymes involved in the metabolism of HCAs performed after concurrent exposure to XN and HCA showed that the mechanism of XN mediated protection against the genotoxicity of HCAs is activation of detoxification by UDP-glucuronyltransferase. In collaboration with the colleagues from the Medical University in Vienna we confirmed protective effect of XN against carcinogenicity of HAA also in rats. These results are now opening the way to further research of chemopreventive properties of XN in humans that may include also volunteers.

## 10.2. Pomen za razvoj Slovenije<sup>11</sup>

SLO

Rezultati tega projekta lahko posredno doprinesejo k izboljšanju človekovega zdravja, kar ima koristi tudi za slovensko družbo in gospodarstvo. Znano je, da prehrana igra pomembno vlogo v etiologiji raka pri ljudeh. Posebno pomembno je poznavanje vloge heterocikličnih aromatskih aminov, katerim smo izpostavljeni prek uživanja pečenega mesa, ki je v slovenski populaciji zelo razširjeno. Epidemiološke raziskave kažejo povezavo med uživanjem mesa in tveganjem za raka, zato bodo nova spoznanja o kompleksnih mehanizmih delovanja heterocikličnih aromatskih aminov omogočila ustreznejše, na znanstvenih osnovah temelječe svetovanje potrošnikom glede možne zaščite pred škodljivimi zdravstvenimi posledicami uživanja mesa. Izboljšane prehranske navade ljudi lahko zmanjšajo tveganja za raka v Slovenski in Evropski populaciji in kar bo pripomoglo izboljšanju zdravja vseh. To bo hkrati pripomoglo tudi k zmanjšanju stroškov zdravljenja, ter gospodarske škode zaradi bolniških odsotnosti. Izsledki raziskav kemoprevencijskega delovanja ksantohumola so na stopnji, ko je možno pričeti z razvojem prehranskih dodatkov. Z rezultati raziskav bomo seznanili ustrezne gospodarske subjekte in skušali najti interesente za razvoj tržnih produktov z visoko dodano vrednostjo.

ANG

The results of this project may contribute to the improvement of human health, which will have also indirect benefits for Slovenian society and economy. It is well documented that the diet plays a crucial role in the aetiology of cancer in humans. Of particular interest is the role of heterocyclic aromatic amines consumed through grilled meat, which is common in Slovenian population. There is strong epidemiological evidence that meat consumption is associated with certain cancers, therefore the new knowledge of the complex mechanisms of their activity will enable more adequate, scientific based advice to customers regarding protection against the adverse consequences of consumption of meat. Ultimately, improvement in the human diet can reduce the risk of cancer in Slovenian and European populations and contribute to improvements in overall health. This will certainly assist in controlling costs of hospitals and follow-up treatments.

The results of the studies of the chemopreventive activities of xanthoumol are at the level that allows for the beginning of the development of food supplements. We will disseminate our results to relevant traders and try to find the ones that will be interested for the development of products with high added value.

**11. Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!  
Označite, katerega od navedenih ciljev ste si zastavili pri projektu, katere konkretne rezultate ste dosegli in v kakšni meri so doseženi rezultati uporabljeni**

Cilj		
<b>F.01</b>	<b>Pridobitev novih praktičnih znanj, informacij in veščin</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.02</b>	<b>Pridobitev novih znanstvenih spoznanj</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.03</b>	<b>Večja usposobljenost raziskovalno-razvojnega osebja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.04</b>	<b>Dvig tehnološke ravni</b>	

	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.05</b>	<b>Sposobnost za začetek novega tehnološkega razvoja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.06</b>	<b>Razvoj novega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.07</b>	<b>Izboljšanje obstoječega izdelka</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.08</b>	<b>Razvoj in izdelava prototipa</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.09</b>	<b>Razvoj novega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.10</b>	<b>Izboljšanje obstoječega tehnološkega procesa oz. tehnologije</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.11</b>	<b>Razvoj nove storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.12</b>	<b>Izboljšanje obstoječe storitve</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

<b>F.13</b>	<b>Razvoj novih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.14</b>	<b>Izboljšanje obstoječih proizvodnih metod in instrumentov oz. proizvodnih procesov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.15</b>	<b>Razvoj novega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.16</b>	<b>Izboljšanje obstoječega informacijskega sistema/podatkovnih baz</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.17</b>	<b>Prenos obstoječih tehnologij, znanj, metod in postopkov v prakso</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.18</b>	<b>Posredovanje novih znanj neposrednim uporabnikom (seminarji, forumi, konference)</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.19</b>	<b>Znanje, ki vodi k ustanovitvi novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.20</b>	<b>Ustanovitev novega podjetja ("spin off")</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.21</b>	<b>Razvoj novih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE



	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.22</b>	<b>Izboljšanje obstoječih zdravstvenih/diagnostičnih metod/postopkov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.23</b>	<b>Razvoj novih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.24</b>	<b>Izboljšanje obstoječih sistemskih, normativnih, programskih in metodoloških rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.25</b>	<b>Razvoj novih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.26</b>	<b>Izboljšanje obstoječih organizacijskih in upravljavskih rešitev</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.27</b>	<b>Prispevek k ohranjanju/varovanje naravne in kulturne dediščine</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.28</b>	<b>Priprava/organizacija razstave</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.29</b>	<b>Prispevek k razvoju nacionalne kulturne identitete</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

<b>F.30</b>	<b>Strokovna ocena stanja</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.31</b>	<b>Razvoj standardov</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.32</b>	<b>Mednarodni patent</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.33</b>	<b>Patent v Sloveniji</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.34</b>	<b>Svetovalna dejavnost</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>
<b>F.35</b>	<b>Drugo</b>	
	Zastavljen cilj	<input type="radio"/> DA <input type="radio"/> NE
	Rezultat	<input type="text"/>
	Uporaba rezultatov	<input type="text"/>

**Komentar**

--

**12.Samo za aplikativne projekte in podoktorske projekte iz gospodarstva!**  
**Označite potencialne vplive oziroma učinke vaših rezultatov na navedena področja**

	<b>Vpliv</b>	<b>Ni vpliva</b>	<b>Majhen vpliv</b>	<b>Srednji vpliv</b>	<b>Velik vpliv</b>	
<b>G.01</b>	<b>Razvoj visokošolskega izobraževanja</b>					
G.01.01.	Razvoj dodiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.02.	Razvoj podiplomskega izobraževanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.01.03.	Drugo: <input type="text"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.02</b>	<b>Gospodarski razvoj</b>					
G.02.01	Razširitev ponudbe novih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	

	izdelkov/storitev na trgu					
G.02.02.	Širitev obstoječih trgov	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.03.	Znižanje stroškov proizvodnje	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.04.	Zmanjšanje porabe materialov in energije	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.05.	Razširitev področja dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.06.	Večja konkurenčna sposobnost	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.07.	Večji delež izvoza	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.08.	Povečanje dobička	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.09.	Nova delovna mesta	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.10.	Dvig izobrazbene strukture zaposlenih	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.11.	Nov investicijski zagon	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.02.12.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.03</b>	<b>Tehnološki razvoj</b>					
G.03.01.	Tehnološka razširitev/posodobitev dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.02.	Tehnološko prestrukturiranje dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.03.	Uvajanje novih tehnologij	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.03.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.04</b>	<b>Družbeni razvoj</b>					
G.04.01	Dvig kvalitete življenja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.02.	Izboljšanje vodenja in upravljanja	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.03.	Izboljšanje delovanja administracije in javne uprave	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.04.	Razvoj socialnih dejavnosti	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.05.	Razvoj civilne družbe	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.04.06.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.05.</b>	<b>Ohranjanje in razvoj nacionalne naravne in kulturne dediščine in identitete</b>					
<b>G.06.</b>	<b>Varovanje okolja in trajnostni razvoj</b>					
<b>G.07</b>	<b>Razvoj družbene infrastrukture</b>					
G.07.01.	Informacijsko-komunikacijska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.02.	Prometna infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.03.	Energetska infrastruktura	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
G.07.04.	Drugo:	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
<b>G.08.</b>	<b>Varovanje zdravja in razvoj zdravstvenega varstva</b>					
<b>G.09.</b>	<b>Drugo:</b>					

**Komentar**

--

**13. Pomen raziskovanja za sofinancerje<sup>12</sup>**

	Sofinancer		
1.	Naziv		
	Naslov		
	Vrednost sofinanciranja za celotno obdobje trajanja projekta je znašala:		EUR
	Odstotek od utemeljenih stroškov projekta:		%
	Najpomembnejši rezultati raziskovanja za sofinancerja		Šifra
		1.	
		2.	
		3.	
		4.	
		5.	
	Komentar		
	Ocena		

**14. Izjemni dosežek v letu 2012<sup>13</sup>****14.1. Izjemni znanstveni dosežek**

--

**14.2. Izjemni družbeno-ekonomski dosežek**

--

**C. IZJAVE**

Podpisani izjavljam/o, da:

- so vsi podatki, ki jih navajamo v poročilu, resnični in točni
- se strinjamo z obdelavo podatkov v skladu z zakonodajo o varstvu osebnih podatkov za potrebe ocenjevanja ter obdelavo teh podatkov za evidence ARRS
- so vsi podatki v obrazcu v elektronski obliki identični podatkom v obrazcu v pisni obliki
- so z vsebino zaključnega poročila seznanjeni in se strinjajo vsi soizvajalci projekta

**Podpisi:**

*zastopnik oz. pooblaščen oseba  
raziskovalne organizacije:*

in

*vodja raziskovalnega projekta:*

Nacionalni inštitut za biologijo

Metka Filipič

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**ŽIG**

Kraj in datum: 

Ljubljana	15.3.2013
-----------	-----------

**Oznaka prijave: ARRS-RPROJ-ZP-2013/235**

<sup>1</sup> Opredelite raziskovalno področje po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science). Prevajalna tabela med raziskovalnimi področji po klasifikaciji ARRS ter po klasifikaciji FOS 2007 (Fields of Science) s kategorijami WOS (Web of Science) kot podpodročji je dostopna na spletni strani agencije (<http://www.rrs.gov.si/sl/gradivo/sifranti/preslik-vpp-fos-wos.asp>). [Nazaj](#)

<sup>2</sup> Napišite povzetek raziskovalnega projekta (največ 3.000 znakov v slovenskem in angleškem jeziku) [Nazaj](#)

<sup>3</sup> Napišite kratko vsebinsko poročilo, kjer boste predstavili raziskovalno hipotezo in opis raziskovanja. Navedite ključne ugotovitve, znanstvena spoznanja, rezultate in učinke raziskovalnega projekta in njihovo uporabo ter sodelovanje s tujimi partnerji. Največ 12.000 znakov vključno s presledki (približno dve strani, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>4</sup> Realizacija raziskovalne hipoteze. Največ 3.000 znakov vključno s presledki (približno pol strani, velikost pisave 11) [Nazaj](#)

<sup>5</sup> V primeru bistvenih odstopanj in sprememb od predvidenega programa raziskovalnega projekta, kot je bil zapisan v predlogu raziskovalnega projekta oziroma v primeru sprememb, povečanja ali zmanjšanja sestave projektne skupine v zadnjem letu izvajanja projekta, napišite obrazložitev. V primeru, da sprememb ni bilo, to navedite. Največ 6.000 znakov vključno s presledki (približno ena stran, velikost pisave 11). [Nazaj](#)

<sup>6</sup> Navedite znanstvene dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Raziskovalni dosežek iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'. [Nazaj](#)

<sup>7</sup> Navedite družbeno-ekonomske dosežke, ki so nastali v okviru tega projekta. Družbeno-ekonomski rezultat iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) vpišete tako, da izpolnite COBISS kodo dosežka – sistem nato sam izpolni naslov objave, naziv, IF in srednjo vrednost revije, naziv FOS področja ter podatek, ali je dosežek uvrščen v A'' ali A'.

Družbeno-ekonomski dosežek je po svoji strukturi drugačen kot znanstveni dosežek. Povzetek znanstvenega dosežka je praviloma povzetek bibliografske enote (članka, knjige), v kateri je dosežek objavljen.

Povzetek družbeno-ekonomskega dosežka praviloma ni povzetek bibliografske enote, ki ta dosežek dokumentira, ker je dosežek sklop več rezultatov raziskovanja, ki je lahko dokumentiran v različnih bibliografskih enotah. COBISS ID zato ni enoznačen, izjemoma pa ga lahko tudi ni (npr. prehod mlajših sodelavcev v gospodarstvo na pomembnih raziskovalnih nalogah, ali ustanovitev podjetja kot rezultat projekta ... - v obeh primerih ni COBISS ID). [Nazaj](#)

<sup>8</sup> Navedite rezultate raziskovalnega projekta iz obdobja izvajanja projekta (do oddaje zaključnega poročila) v primeru, da katerega od rezultatov ni mogoče navesti v točkah 7 in 8 (npr. ker se ga v sistemu COBISS ne vodi). Največ 2.000 znakov, vključno s presledki. [Nazaj](#)

<sup>9</sup> Pomen raziskovalnih rezultatov za razvoj znanosti in za razvoj Slovenije bo objavljen na spletni strani: <http://sicris.izum.si/> za posamezen projekt, ki je predmet poročanja [Nazaj](#)

<sup>10</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>11</sup> Največ 4.000 znakov, vključno s presledki [Nazaj](#)

<sup>12</sup> Rubrike izpolnite / prepisite skladno z obrazcem "izjava sofinancerja" <http://www.rrs.gov.si/sl/progproj/rproj/gradivo/>, ki ga mora izpolniti sofinancer. Podpisan obrazec "Izjava sofinancerja" pridobi in hrani nosilna raziskovalna organizacija – izvajalka projekta. [Nazaj](#)

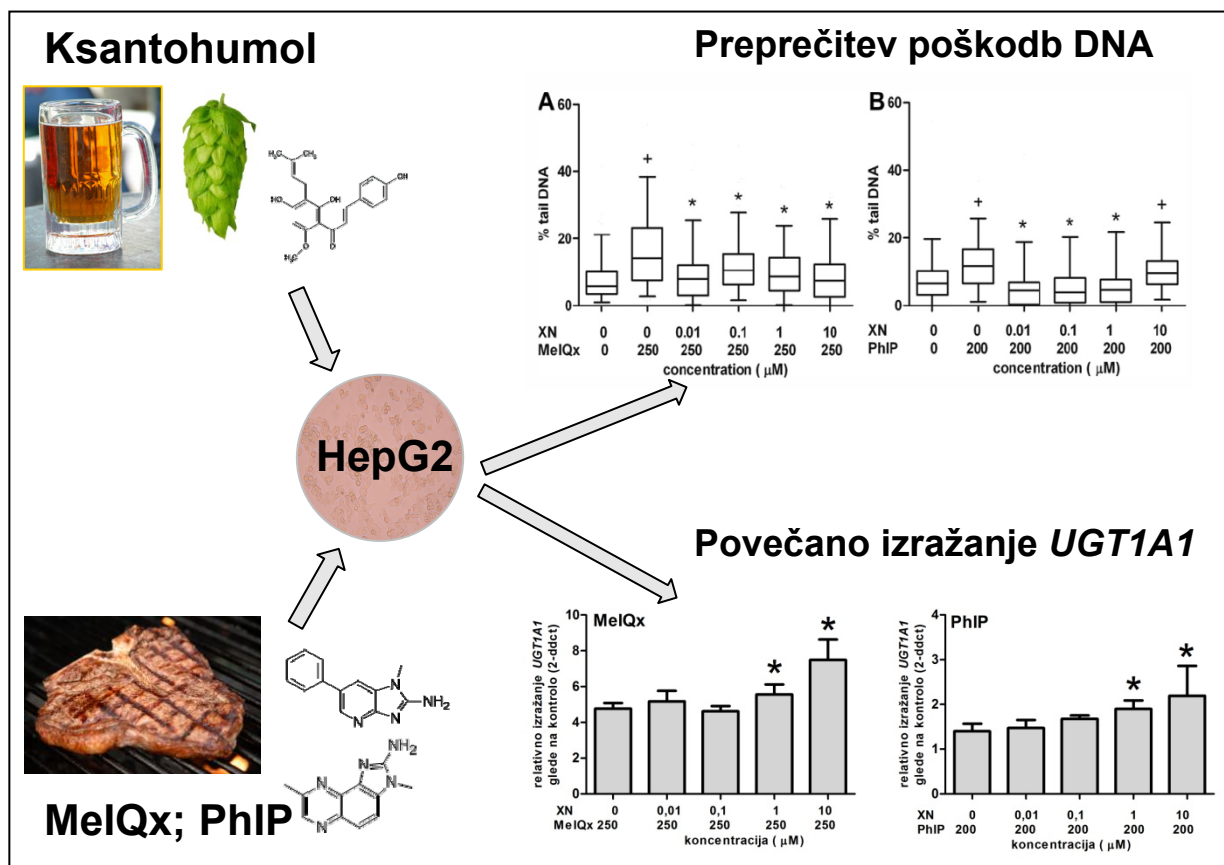
<sup>13</sup> Navedite en izjemni znanstveni dosežek in/ali en izjemni družbeno-ekonomski dosežek raziskovalnega projekta v letu 2012 (največ 1000 znakov, vključno s presledki). Za dosežek pripravite diapozitiv, ki vsebuje sliko ali drugo slikovno gradivo v zvezi z izjemnim dosežkom (velikost pisave najmanj 16, približno pol strani) in opis izjemnega dosežka (velikost pisave 12, približno pol strani). Diapozitiv/-a priložite kot priponko/-i k temu poročilu. Vzorec diapozitiva je objavljen na spletni strani ARRS <http://www.rrs.gov.si/sl/gradivo/>, predstavitev dosežkov za pretekla leta pa so objavljena na spletni strani <http://www.rrs.gov.si/sl/analize/dosez/>. [Nazaj](#)

Obrazec: ARRS-RPROJ-ZP/2013 v1.00  
BE-60-25-41-AA-91-38-91-1C-9A-30-2A-64-4E-21-E3-ED-5D-CC-BA

# NARAVOSLOVJE

## Področje: 1.05 Biokemija in molekularna biologija

Dosežek: Viegas Olga, Žegura, Bojana, Pezdirc Marko, Novak Matjaž, Ferreira Isabel, Pinho Olivia, Filipič Metka, Zaščitno delovanje ksantohumola proti genotoksičnosti heterocikličnih aminov PhIP in MelQx. Vir: Food and chemical toxicology; 2012; 50, 949-955.



Več predhodnih raziskav, vključno z našimi, je pokazalo, da ksantohumol (XN), preniliran flavonoid hmelja, učinkovito zavira genotoksično aktivnost genotoksinov, ki potrebujejo metabolično aktivacijo, med katere spadajo tudi karcinogeni heterociklični aromatski amini (HCA). Predpostavljalo se je, da je mehanizem zaščitnega delovanja XN zaviranje metabolne aktivacije pro-mutagenov. V tej raziskavi smo pokazali, da XN pri HepG2 celicah popolnoma zavre z MelQx in PhIP povzročene poškodbe DNA že pri nanomolarnih koncentracijah. Primerjalna analiza sprememb izražanja genov presnovnih encimov v celicah izpostavljenih PhIP ali MelQx z ali brez XN je v prisotnosti XN pokazala povišano izražanje *UGT1A1*. Prvi smo tako pokazali, da je detoksifikacija z UDP-glukoronoziltransferazo lahko pomemben mehanizem zaščitnega delovanja XN pred genotoksičnostjo HCA. Ta raziskava je dala pomembne nove informacije, ki bodo pripomogle k oceni kemoprevencijske učinkovitosti XN za ljudi in morebitnemu razvoju prehranskih dodatkov na osnovi XN.