

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На VII редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду одржаној 13.05.2016. године, прихваћен је извештај ментора др Невенке Глигоријевић, научног сарадника Института за онкологију и радиологију Србије и др Михаила Јелића, доцента Биолошког факултета Универзитета у Београду да је кандидаткиња **Катарина К. Јовановић** урадила и написала докторску дисертацију под насловом: „Молекуларни механизми антипролиферативног дејства рутенијум(II)-аренског комплекса са изохинолин-3-карбоксилном киселином као лигандом у условима *in vitro*“ и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу:

др Невенка Глигоријевић, научни сарадник Института за онкологију и радиологију Србије, др Михаило Јелић, доцент Биолошког факултета Универзитета у Београду и др Сања Гргурић-Шипка, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Експериментални део дисертације је урађен у Лабораторији за фармакологију Института за онкологију и радиологију Србије, у оквиру пројекта „Фармакодинамска и фармакогеномска испитивања новијих лекова у лечењу солидних тумора“: финансираним од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја (евиденциони број 41026). Докторска дисертација садржи насловну страну на српском и енглеском језику, страну са подацима о менторима и члановима комисије, захвалницу, резиме на српском и енглеском језику, садржај, текст рада по поглављима, биографију аутора и прилоге везане за ауторство. Текст дисертације је написан на 113 страна. Састоји се из следећих поглавља: Увод, Циљеви истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључак и Литература. Дисертација садржи 21 слику, 5 табела, а поглавље Литература има 165 наслова, који се адекватно наводе у тексту.

Анализа докторске дисертације:

У **Уводу** докторске дисертације је прво дат кратак осврт на узрочнике, патофизиологију и терапијске приступе у лечењу канцера. Затим следи преглед најбитнијих комплекса платине са антитуморским дејством са акцентом на цисплатини. У потрази за антитуморским агенсима међу комплексима метала, комплекси рутенијума су се појавили као најперспективнији. У уводу је даље дат преглед структура и активности различитих група комплекса рутенијума од њиховог увођења у клиничка истраживања до данас. У овом делу дисертације су представљени и типови ћелијске смрти са акцентом на молекуларне аспекте апоптозе, као пожељног, неагресивног типа ћелијске смрти.

У поглављу **Циљеви истраживања** приказани су основни циљеви докторске дисертације. Први циљ овог рад је био одређивање интензитета цитотоксичног дејства серије од седам рутенијумских комплекса дизајнираних, синтетисаних и окарактерисаних

на Хемијском факултету Универзитета у Београду. У питању су рутенијум(II)-аренски комплекси са дериватима пиколинске киселине. Даље је циљ докторске дисертације био испитивање молекуларних механизма антиканцерске активности рутенијум(II)-аренског комплекса са изохинолин-3-карбоксилном киселином, као најактивнијег једињења из испитиване серије на одабраној ћелијској линији хуманог карцинома цервикса (HeLa) на којој је испољио значајно цитотоксично дејство. Прво је урађена анализа цитотоксичности овог комплекса на проширеном панелу туморских ћелијских линија и две нормалне ћелијске линије, како би се одредио степен цитотоксичног дејства комплекса и утврдила селективност у дејству ка туморским ћелијским линијама. Испитивање молекуларног механизма дејства је обухватало анализу потенцијалних промена у фазама ћелијског циклуса, анализу типа ћелијске смрти коју испитивано једињење изазива на осетљивој ћелијској линији, као и праћење акумулације рутенијума унутар ћелија. Такође, урађена је анализа промена у генској експресији комплетног транскриптома осетљиве ћелијске линије након третмана рутенијумским комплексом и цисплатином, заједно са праћењем динамике промене профила експресије, у циљу идентификовања раних и касних гена чији се профили експресије мењају током времена као одговор на третман. Поређење молекуларних профила експресије ћелија третираних рутенијумским комплексом и цисплатином је урађено у циљу расветљавања разлика у механизму дејства између ова два једињења. На крају, анализирани су претпостављени профили токсичности за рутенијум и цисплатину, што је информација од изузетног значаја за потенцијалну примену једињења као цитостатика.

Поглавље **Материјал и методе** описује експерименталне процедуре свих метода коришћених приликом израде ове докторске дисертације, као и порекло свих супстанци и материјала.

У делу **Резултати** приказани су резултати експеримената у 9 поглавља. У првом делу су приказани резултати цитотоксичности испитиваних једињења добијени МТТ тестом. Кандидаткиња је утврдила да је рутенијум(II)-аренски комплекс са изохинолин-3-карбоксилном киселином показао значајну цитотоксичност на скоро свим испитаним туморским ћелијским линијама, као и да је испољио селективност у своме дејству према туморским ћелијским линијама у односу на нетуморску линију. У другом делу су представљени резултати анализе ћелијског циклуса на проточном цитометру, који су показали акумулацију HeLa ћелија у синтетичкој фази ћелијског циклуса под дејством третмана овим комплексом. Испитивани комплекс је показао изражен апоптотски потенцијал, што је установљено морфолошким анализом ћелија на флуоресцентном микроскопу и двојним бојењем ћелија на проточном цитометру, а представљено у оквиру трећег дела Резултата. Анализа HeLa ћелија на масеном спектрометру приказана у оквиру четвртог дела је показала присуство рутенијума унутар ћелија у значајној концентрацији, која се повећава са порастом времена инкубације. На молекуларном нивоу се ефекат рутенијум(II)-аренског комплекса огледа у виду блаже пертурбације транскриптома HeLa ћелија у односу на ону изазвану третманом цисплатином, као и у другачијем профилу промене генске експресије, што указује на сличности и разлике у механизму дејства овог комплекса у односу на цисплатину. Кандидаткиња је установила да рутенијум(II)-аренски комплекс доводи до оштећења на ДНК молекулу, која настају како његовим директним везивањем за овај молекул, тако и дејством реактивних кисеоничних врста које се стварају унутар ћелије. Такође, анализом промена у генској експресији индукованих третманом испитиваним комплексом установљено је да дато једињење доводи до активације

унутрашњег (митохондријског) апоптотског пута код HeLa ћелија. На крају, применом IPA упоредне анализа токсичности за диференцијално експримиране гене кандидаткиња је показала одсуство системске токсичности код HeLa ћелија третираних рутенијум(II)-аренским комплексом за процесе срчане аритмије, инфаркта миокарда и отказивања бубрежне функције, а који се јављају након третмана цисплатином.

Упоредјујући своје резултате са резултатима других истраживача који су били доступни, кандидаткиња у **Дискусији** излаже сазнања и чињенице које доприносе укупном разумевању постављеног проблема.

Закључци истраживања су јасно формулисани и пружају одговоре на постављене циљеве.

Резултати добијени у овој дисертацији до сада су публиковани у једном раду у врхунском међународном часопису (M21) и једном раду у истакнутом међународном часопису (M22).

Радови из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Jovanović K. K.**, Tanić M., Ivanović I., Gligorijević N., Dojčinović B. P., Radulović S., (2016) Cell cycle, apoptosis, cellular uptake and whole-transcriptome microarray gene expression analysis of HeLa cells treated with a ruthenium(II)-arene complex with an isoquinoline-3-carboxylic acid ligand, Journal of Inorganic Biochemistry, [doi:10.1016/j.jinorgbio.2016.04.011](https://doi.org/10.1016/j.jinorgbio.2016.04.011). (M21)
2. Ivanović I., **Jovanović K. K.**, Gligorijević N., Radulović S., Arion V. B., Sheweshein A. M. K. S., Tešić Ž. Lj., Grgurić-Šipka S., (2014) Ruthenium(II)-arene complexes with substituted picolinato ligands: Synthesis, structure, spectroscopic properties and antiproliferative activity, Journal of Organometallic Chemistry, 749, 343-349. (M22)

Мишљење и предлог Комисије:

На основу изложене анализе докторске дисертације под насловом „Молекуларни механизми антипролиферативног дејства рутенијум(II)-аренског комплекса са изохинолин-3-карбоксилном киселином као лигандом у условима *in vitro*“, Комисија закључује да су задаци постављени у циљу овог истраживања успешно остварени, методе савремене и добро примењене. Ова докторска дисертација представља оригиналан допринос разумевању молекуларних механизма биолошког дејства рутенијум(II)-аренских комплекса. На основу свега изнетог, предлажемо Наставно-научном већу Биолошког факултета да прихвати овај извештај и кандидаткињи **Катарини К. Јовановић** одобри јавну одбрану докторске дисертације.

У Београду, 24.05.2016. године.

КОМИСИЈА:

др Невенка Глигоријевић, научни сарадник
Институт за онкологију и радиологију Србије

др Михаило Јелић, доцент
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Сања Гргурић-Шипка, редовни професор
Универзитет у Београду – Хемијски факултет