

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Број:	05 11 2020
Одржи:	
ES	10229

**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ И ОДБРАНУ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСKE
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-594/27 од 09.09.2020. године, именовани су чланови Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Испитивање *in vitro* антитуморског ефекта и механизма деловања аналога халкона на ћелије тумора хуманог порекла“ кандидата Јована Д. Луковића, у следећем саставу:

1. **Доц. др Марија Анђелковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, председник;
2. **Проф. др Зоран Ратковић**, ванредни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Органска хемија, члан;
3. **Проф. др Јелена Башић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Биохемија, члан;
4. **Доц. др Милан Зарић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан;
5. **Доц. др Петар Чановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Јована Д. Луковића и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација Јована Д. Луковића под називом „Испитивање *in vitro* антитуморског ефекта и механизма деловања аналога халкона на ћелије тумора хуманог порекла“ урађена под менторством Доц. др Иване Николић доцента Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, представља оригиналну студију која се бавила испитивањем антитуморског ефекта седам синтетисаних аналога халкона на три различите врсте туморских ћелија хуманог порекла (*HeLa* – хумани карцином цервикса, *HCT-116* – хумани карцином колона и *MDA-MB-231* – хумани аденокарцином дојке), као и на здраве фибробласте плућа као контролне ћелије (*MRC-5*).

Карциноми представљају главни узрок смрти у популацији широм света, при чему подаци америчког Националног центра за здравствену статистику предвиђају до краја 2020. године преко 1,5 милиона нових пацијената оболелих од карцинома и преко 500,000 смртних исхода у Сједињеним Америчким Државама. У Србији, пораст инциденце и mortalитета код мушке популације у периоду од 2011. до 2015. године за канцер колона износио је 13%, док је пораст инциденце и mortalитета код женске популације износио 11,5%. Највећи пораст инциденце и mortalитета код женске популације у Србији забележен је за карцином дојке (18,3%), док карцином цервикса заузима четврто место по порасту инциденце и mortalитета код жена и у поменутом периоду износио је 4,9%. Упркос великом напретку у дијагностици и терапији малигних болести протеклих година, Србија заузима четврто место са највећом стопом смртности од карцинома у свету.

Халкони су ароматични кетони и представљају прекурсоре за биосинтезу флавоноида, изофлавоноида и других биолошки активних једињења. Резултати бројних истраживања су показали да халкони испољавају ефикасан антитуморски ефекат на туморске ћелије карцинома цервикса, колона и дојке са статистички значајно смањеним ефектом на здраве ћелије. Упркос томе, већина природних и синтетисаних халкона има недостатке и ограничења која се огледају у токсичности према здравим ћелијама и неселективности према туморским ћелијама. У циљу редуковања поменутих нежељених ефеката, непрестано се врши синтеза великог броја различитих деривата и аналога халкона. Сходно

томе, аналоги халкона чији је антитуморски ефекат испитиван у овом истраживању представљају аналоге дехидрозингерона (природног халкона који је изолован из биљке ђумбир) и синтетисани су *de novo* од ванилина као полазног једињења. С тим у вези, аналог халкона означен као **X1** ((E)-1-(4-хидрокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он) синтетисан је *Claisen-Schmidt*-овом реакцијом од ванилина, док је осталих шест аналога добијено алкиловањем слободне фенолне групе са одговарајућим алкил халогенидима: (E)-1-(3,4-диметоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (**X2**), (E)-1-(4-етокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (**X3**), (E)-1-(4-изопропокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (**X4**), (E)-1-(3-метокси-4-пропоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (**X5**), (E)-1-(4-бутокси-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (**X6**), (E)-1-(4-(бензилокси)-3-метоксифенил)-5-метилхекс-1-ен-3-он (**X7**). Сходно томе, синтетисани халкони у овом истраживању разликују се од свих осталих аналога, деривата и природних халкона по одсуству ароматичног А прстена.

Резултати докторске дисертације показали су да свих седам испитиваних халкона (**X1-X7**) испољавају цитотоксична дејства на ћелије карцинома колона, цервикса и дојке, путем индуковања апоптозе (и/или аутофагије), уз незнатан ефекат на здраве хумане фибробласте плућа. Такође, халкони **X1-X7** испољавају ефикасније цитотоксичне ефекте на поменуте туморке ћелије у односу на цисплатину, која већ има примену у медицини као антиканцерогени агенс. Поред тога, резултати докторске дисертације су показали да халкони **X1-X7** показују ефикасније цитотоксичне ефекте и већу селективност у односу на већину халкона из досадашњих истраживања. Испитивани аналоги халкона индукују апоптозу туморских ћелија путем активирања митохондријалног апоптотског пута, смањујући релативни однос *Bcl-2/Bax* протеина и активирањем *Bax*-а што сукцесивно доводи до транслокације цитохрома *c* из митохондрија у цитосол ћелије и активације егзекуторне каспазе-3. Сходно томе, добијени резултати ове докторске дисертације показали су да халкони **X1-X7** могу бити потенцијални агенси за лечење малигнитета.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Претрагом литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података коришћењем кључних речи: аналози халкона, антитуморски ефекат, цитотоксичност, апоптоза, хумане туморске ћелије, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа у погледу хемијске структуре халкона коришћених у изради ове докторске дисертације. С тим у вези, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Јована Д. Луковића под називом „Испитивање *in vitro* антитуморског ефекта и механизма деловања аналога халкона на ћелије тумора хуманог порекла“, представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

2.3.1. Лични подаци

Кандидат Јован Луковић рођен је 13.05.1986. године у Крагујевцу. Завршио је основну школу „Станислав Сремчевић“ 2001. године у Крагујевцу. Средњу школу, Прву крагујевачку гимназију, смер математички завршио је у Крагујевцу 2005. године. Интегрисане академске студије хемије на Природно-математичком факултету у Крагујевцу завршио је у децембру 2013. године са просечном оценом 8.59. Школске 2014/2015. године уписао је Академске докторске студије, смер Клиничка и експериментална биохемија, на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Усмени докторски испит положио је септембра 2017. године са оценом 10.

2.3.2. Списак објављених радова

1. **Luković J, Mitrović M, Popović S, Milosavljević Z, Stanojević-Pirković M, Andjelković M, Zelen I, Šorak M, Muškinja J, Ratković Z, Nikolić I.** Antitumor effects of vanillin based chalcone analogs *in vitro*. *Acta Pol Pharm - Drug Res.* 2020;77(1):57–67. **M23**

2. **Luković J**, Milosavljević Z, Mitrović M, Anđelković M, Zelen I, Stanojević Pirković M, Nikolić I. Antitumor effect of mifepristone on human endometrial stromal cell line. *Vojnosanit Pregl.* 2019; doi: 10.2298/VSP190226104L. **M23**
3. **Luković J**, Zelen I, Čanović P, Mitrović M, Zarić M, Nikolić I. Antitumor Effect of the Chalcone Analogue, (E) -1- (4-Ethoxy-3-Methoxyphenyl) -5- Methylhex-1-en-3-One on HeLa Cell Line. *Ser J Exp Clin Res* 2019;20(3):215-21. **M51**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Одобрени циљеви истраживања и постављени циљеви у раду су остали исти. Примењена методологија истраживања идентична је са одобреном. Докторска дисертација Јована Д. Луковића написана је на 110 страница и обухвата следећа поглавља: увод, циљеве истраживања, материјал и методе, резултате, дискусију, закључак и литературу.

У уводном делу кандидат детаљно описује актуелна сазнања о испитиваној теми и њеном значају и повезује их са темом свог рада. Јасно су изложени циљеви рада, при чему основни циљ представља испитивање цитотоксичног ефекта аналога халкона **X1-X7** на туморске ћелије и њихов ефекат на здраве фибробласте, као контролне ћелије.

Након јасно дефинисаних циљева истраживања, кандидат детаљно описује методологију истраживања која је у складу са методологијом одобреној у пријави дисертације.

Резултати истраживања систематично су приказани и адекватно документовани сликама и табелама. Резултатима МТТ теста анализирана је цитотоксичност аналога халкона на три туморске ћелијске линије (*HeLa*, *HCT-116* и *MDA-MB-231*), као и њихов ефекат на ћелије фибробласта *MRC-5* (контрола). Анализирани резултати поређени су са цитотоксичности цисплатине и дехидрозингерона као контролним супстанцама. Анализом проточне цитометрије утврђен је тип ћелијске смрти индукован од стране аналога халкона. Након доказивања да је апоптоза доминантан тип смрти туморских ћелија индукован од стране аналога халкона, методом проточне цитометрије утврђена је смањена експресија анти-апоптотичног *Bcl-2* протеина и повећана експресија активног *Bax*-а и екзекуторне каспазе-3. Осим тога, методом флуоресцентне микроскопије потврђена је

експресија регулаторних протеина апоптозе за три структурно различита аналога халкона X1, X5 и X7. Након сваке групе добијених података јасно су наглашени најзначајнији резултати овог истраживања.

У поглављу дискусија анализирани су добијени резултати и поређени са подацима из литературе из ове области. Коментари добијених резултата су детаљно дискутовани и начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. Резултати су дискутовани у контексту сличних, различитих, па чак и конфликтних података о цитотоксичном ефекту и механизму деловања аналога халкона на три различите врсте туморских ћелија. При томе су наведени ставови из најактуелнијих научних радова поменуто области.

У поглављу литература цитирани су библиографски подаци из домаћих и иностраних публикација. Литература је адекватна по обиму, при чему је цитирано 282 референце које су коришћене у изради ове докторске дисертације.

На основу претходно изнетих чињеница Комисија сматра да завршена докторска дисертација под називом „Испитивање *in vitro* антитуморског ефекта и механизма деловања аналога халкона на ћелије тумора хуманог порекла“, кандидата Јована Д. Луковића по обиму и квалитету одговара пријављеној теми.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Научни резултати докторске дисертације садржани су у следећим закључцима:

1. Испитивани аналози халкона (X1-X7) испољавају ефикасан цитотоксични ефекат на све испитиване туморске ћелијске (ћелијске линије HeLa, HCT-116 и MDA-MB-231) и не испољавају цитотоксично дејство на здраве фибробласте плућа (MRC-5 ћелијска линија). Такође, сви испитивани аналози халкона испољавају ефикаснији цитотоксични ефекат у односу на цисплатину.
2. Аналози халкона свој цитотоксични ефекат на испитиване туморске ћелије остварују путем индуковања апоптозе у туморским ћелијама.
3. Резултати истраживања показали су да аналози халкона индукују апоптозу у туморским ћелијама путем активације митохондријалног апоптотског пута. С тим у вези, резултати истраживања показали су да аналози халкона резултују смањеном

експресијом анти-апоптотичног *Bcl-2* протеина, повећаном експресијом активног *Bax*-а и повећаном експресијом егзекуторне каспазе-3.

4. Резултати истраживања показали су да код неких халкона аутофагија доприноси њиховој цитотоксичности на *HeLa* и *HCT-116* ћелије.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају важан допринос науци јер показују да испитивани халкони испољавају ефикаснији цитотоксични ефекат на туморске ћелије, уз изразиту селективност према здравим фибробластима, у односу на халконе из досадашњих истраживања која су прегледана. Такође, истраживање је показало да испитивани аналози халкона цитотоксични ефекат остварују индуковањем апоптозе путем активирања митохондријалног апоптотског пута. На основу поменутог, добијени резултати истраживања су показали да аналози халкона могу имати примену као потенцијални терапеутици у лечењу различитих типова карцинома.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове докторске дисертације објављени су као оригинално истраживање у међународном часопису индексираном на SCI листи, категорије M23 и M51.

1. **Luković J, Mitrović M, Popović S, Milosavljević Z, Stanojević-Pirković M, Andjelković M, Zelen I, Šorak M, Muškinja J, Ratković Z, Nikolić I.** Antitumor effects of vanillin based chalcone analogs in vitro. *Acta Pol Pharm - Drug Res.* 2020;77(1):57–67. **M23**
2. **Luković J, Zelen I, Čanović P, Mitrović M, Zarić M, Nikolić I.** Antitumor Effect of the Chalcone Analogue, (E) -1- (4-Ethoxy-3-Methoxyphenyl) -5- Methylhex-1-en-3-One on HeLa Cell Line. *Ser J Exp Clin Res* 2019;20(3):215-21. **M51**

ЗАКЉУЧАК

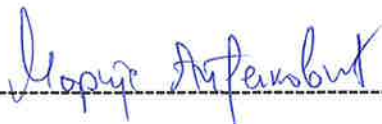
Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Јована Д. Луковића под називом **„Испитивање *in vitro* антитуморског ефекта и механизма деловања аналога халкона на ћелије тумора хуманог порекла“**, на основу свега наведеног сматра да је истраживање у оквиру дисертације засновано на савременим сазнањима и да је адекватно и прецизно спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Јована Д. Луковића, урађена под менторством доц. др Иване Николић доцента Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, представља оригинални научни рад, да даје научни допринос и има велики практични значај у будућим испитивањима на ову тему, с обзиром да испитивани аналози халкона испољавају ефикасан антитуморски ефекат на различите типове тумора и не делују на здраве фибробласте.

На основу свега наведеног, Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом **„Испитивање *in vitro* антитуморског ефекта и механизма деловања аналога халкона на ћелије тумора хуманог порекла“** кандидата Јована Д. Луковића буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Доц. др Марија Анђелковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, председник;




2. Проф. др Зоран Ратковић, ванредни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Органска хемија, члан;



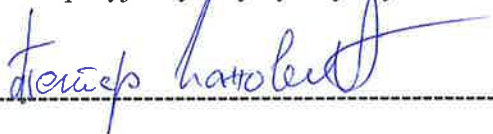
3. Проф. др Јелена Башић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Биохемија, члан;



4. Доц. др Милан Зарић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан;



5. Доц. др Петар Чановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан.



У Крагујевцу, 09.10.2020. године