

Институти сагласан
Др. Снежана Кошарић**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ И
ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ**

Веће за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу, на основу члана 48. Статута Универзитета у Крагујевцу (број II-01-360 од 28.04.2017. године - пречишћен текст), члана 14. Правилника о пријави, изради и одбрани докторске дисертације, докторског уметничког пројекта (број III-01-749/21 од 29.09.2016. године), Одлуке о изменама и допунама Правилника о пријави, изради и одбрани докторске дисертације, докторског уметничког пројекта (број III-01-43/10 од 26.01.2017. године), чланова 42. и 43. став 1. Пословника о раду Већа Универзитета у Крагујевцу (број III-01-188 од 07.03.2016. године - пречишћен текст), а имајући у виду предлог Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Одлука број 220/VIII-2 од 28.03.2018. године, на седници одржаној 11.04.2018. године, одлуком број IV-01-250/8 именовало је комисију за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом „Испитивање молекуларних механизма дејства неких органоселенских једињења на редокс статус ћелија канцера колона НСТ-116 и дојке MDA-MB-231“ кандидата **Јелене В. Кошарић**, дипломираног биолога, у следећем саставу:

- 1 **Др Бранка Огњановић, редовни професор**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија;
- 2 **Др Зорица Бугарчић, редовни професор, председник Комисије**
Природно-математичког факултета, Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Органска хемија;
- 3 **Др Марко Живановић, научни сарадник**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
научна област: Биологија;
- 4 **Др Биљана Шмит, виши научни сарадник**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
научна област: Хемија;
- 5 **Др Јелена Ракобровић, научни сарадник**
Институт за онкологију и радиологију Србије
научна област: Молекуларна биологија
ужа научна област: Молекуларна генетика.

На основу предложене документације и рукописа, сагласно члану 58. став 3 Статута Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Комисија подноси Наставно-научном већу Природно-математичког факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **Јелена В. Кошарић**, дипломирани биолог, сагласно Правилнику о пријави, изради и одбрани докторске дисертације Универзитета у Крагујевцу, одлуци број 220/VIII-2 Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу од 28.03.2018. године и одлуци број IV-01-250/8 Већа за Природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу од 11.04.2018. године, поднела је рукопис докторске дисертације под насловом: **Испитивање молекуларних механизма дејства неких органоселенских једињења на редокс статус ћелија канцера колона НСТ-116 и дојке MDA-MB-231.**

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

Предмет истраживања докторске дисертације кандидата Јелене В. Кошарић, под насловом “Испитивање молекуларних механизма дејства неких органоселенских једињења на редокс статус ћелија канцера колона НСТ-116 и дојке MDA-MB-231”, представља испитивање дејства одређених органоселенских једињења на параметре редокс статуса наведених ћелијских линија канцера, са детаљним освртом на молекуларне механизме редокс сигнализације. Сви аспекти истраживања докторске дисертације имају за резултат значајан помак на пољу преклиничког испитивања новосинтетисаних органоселенских једињења у терапији колоректалног карцинома и карцинома дојке.

На основу података Републичког завода за статистику, током последње деценије дошло је до пораста стопе морталитета код свих малигнух тумора за 11.7% код мушкараца и 7.0% код жена. У Републици Србији малигни тумори дебелог црева и посебно дојке представљају један од најчешћих типова малигнух тумора од које сваке године приближно оболи 8000 и умре 3900 особа оба пола. Сходно овим подацима, испитивање нових видова антиканцерогене терапије је од суштинског значаја, што је и први циљ дисертације.

Реверзibilне реакције редукције/оксидације (редокс реакције) имају кључну улогу у ћелијској сигнализацији. Појединачне бочне групе цистеина у протеинима могу бити модификоване реактивним врстама кисеоника и азота, мењајући функцију датих протеина. Ове модификације могу бити заустављене помоћу два главна редукциона система у ћелији – глутатион (GSH) и тиоредоксин (Trx) системи. Многи извештаји сугеришу да су ћелије канцера под континуираним оксидационим стресом. Студије на хуманим ћелијским линијама канцера јасно показују да ове ћелије производе слободнорадикалске честице у већој мери од здравих ћелија. Другим речима, споља индуковано повећање садржаја слободних радикала могло би више да

афектира ћелије канцера од здравих ћелија. Индукција стварања слободно-радикалских врста у ћелији представља посебан приступ у борби против канцера, чиме се нарушавају основне функције ћелије, резултирајући повећаном токсичношћу. Разумевање механизма који индукују продукцију реактивних врста помоћу посебно синтетисаних хемотерапеутика на молекуларном нивоу, и поређење добијених резултата на различитим типовима ћелијских линија канцера, од посебне је важности.

Испитиване супстанце, које у својој структури садрже селен (Se), испољавају широк спектар биолошких ефеката: цитотоксичност, прооксидационо и/или антиоксидационо (у зависности од хемијске структуре), проапоптотско и антимиграторно дејство. Истраживања докторске дисертације објашњавају управо однос хемијске структуре испитиваних хемотерапеутика и биолошких ефеката на молекуларном нивоу. Међузависна интеракција испитиваних органоселенских једињења и редокс система ћелије указује на механизме којима су повезане структура, токсичност, продукција и супресија слободних радикала, као и цитотоксично и антимиграторно, тј. антиметастатско дејство. Испитани су молекуларни механизми међусобних интеракција органоселенских једињења са различитим редокс регулисаним транскрипционим факторима задуженим за одбрану ћелије.

Резултати испитивања у оквиру докторске дисертације имају научни допринос у дефинисању механизма биотрансформације и деловања испитиваних органоселенских једињења на молекуларном нивоу у ћелијама канцера колона и дојке, посебно имајући у виду антиоксидационе особине селена. Једињења селена са својим антиоксидационим особинама би могла испољавати посебну клиничку примену у смислу суплемента хемиотерапији, који би смањивали нежељене ефекте саме терапије.

Сагласно описаном стању истраживања у области којој припада, ова докторска дисертација доприноси бољем разумевању цитотоксичних ефеката и молекуларних механизма редокс статуса у ћелијама канцера индукованих појединачним третманима органоселенских једињења. Резултати дисертације могу имати значајну примену у креирању нових антиканцерогених лекова. Резултати постигнути у току израде ове докторске дисертације омогућили су кандидату стручно усавршавање, као и допринос развоју истраживања поменуте области.

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

Имајући у виду доступне литературне податке из области поднетог рукописа докторске дисертације, као и предмет, хипотезе, образложени циљ и резултате истраживања, Комисија је утврдила да је докторска дисертација под насловом „Испитивање молекуларних механизма дејства неких органоселенских једињења на редокс статус ћелија канцера колона НСТ-116 и дојке MDA-MB-231“ резултат оригиналног научног рада кандидата.

Резултати ове докторске дисертације су показали да органоселенска једињења (OCJ) у зависности од хемијске структуре стимулишу пролиферацију испитиваних ћелија (SEL1 и SEL2), или пак делују цитотоксично (SEL3 и SEL4). OCJ испољавају значајан ефекат на миграцију ћелија

канцера, углавном повећавају миграторни потенцијал HCT-116 ћелија, док показују значајан антимиграторни ефекат на метастатским MDA-MB-231 ћелијама.

Испитивања параметара редокс стања ћелија показују да једињења SEL1 и SEL2 испољавају антиоксидационо дејство, док SEL3 и SEL4 делују прооксидационо на обе ћелијске линије. ОСЈ значајно утичу на промене експресије информационе РНК (иРНК) *GPX1*, *GPX2*, *GPX3*, *GPX4* и *GPX6* гена у HCT-116 ћелијама. Већа експресија иРНК ових гена примећена је у третману једињењима SEL1 и SEL2 у односу на третман једињењима SEL3 и SEL4. Што се тиче експресије иРНК *GST* гена, SEL1 повећава, SEL2 инхибира, док SEL3 и SEL4 у зависности од примењене дозе стимулишу или супримирају експресију овог гена у односу на контролне ћелије. Експресија иРНК *TXNRD* гена је супримирана у свим третманима ОСЈ. Резултати утицаја испитиваних ОСЈ на активност транскрипционих фактора Nrf2, HIF и NF-κB на HCT-116 ћелијској линији показују значајно повећање њихове експресије.

3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

Библиографски подаци кандидата Јелене В. Кошарић

Кандидат **Јелена В. Кошарић**, студент докторских академских студија Биологије у Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, положила је све испите предвиђене планом и програмом докторских студија, тема докторске дисертације је прихваћена од стране надлежних Већа Универзитета, те тиме испуњава све формалне услове које захтева процедура за оцену и одбрану докторске дисертације

Резултати научно-истраживачког рада кандидата **Јелене В. Кошарић** објављени су у оквиру **6 библиографских јединица**, од чега **4 рада у међународним научним часописима** (у врхунским M21–1 рад, међународним M23–3 рада), 1 саопштење на међународном научном скупу (штампано у изводу M34-1) и 1 саопштење на националном научном скупу (штампано у изводу M64–1).

A. Научни радови објављени у научним часописима међународног значаја (SCI, M20):

Врхунски међународни часописи - M21 (8 бодова)

1. Petrovic VP, Simijonovic D, Zivanovic MN, **Kosaric JV**, Petrovic ZD, Markovic S, Markovic SD. Vanillic Mannich bases: synthesis and screening of biological activity. Mechanistic insight into the reaction with 4-chloroaniline. *RSC Adv* 2014; 4: 24635-24644. ISSN: 2046-2069. IF²⁰¹⁴ 3.907

Међународни часописи - M23 (3 бода)

2. Čanović P, Bogojeski J, **Košarić JV**, Marković SD, Živanović MN. Pt(IV), Pd(II), and Rh(III) complexes induced oxidative stress and cytotoxicity in the HCT-116 colon cancer cell line. *Turk J Biol* 2017; 41:141-147. ISSN: 1300-0152. IF²⁰¹⁶ 1.038
3. **Košarić JV**, Cvetković DM, Živanović MN, Ćurčić MG, Šeklić DS, Bugarčić ZM, Marković SD. Antioxidative and antiproliferative evaluation of 2-(phenylselenomethyl)tetrahydrofuran and 2-(phenylselenomethyl)tetrahydropyran. *J BUON* 2014; 19(1): 283–290. ISSN: 1107-0625. IF²⁰¹⁴ 0.741

4. Živanović MN, **Košarić JV**, Šmit B, Šeklić DS, Pavlović RZ, Marković SD. Novel Seleno-Hydantoin Palladium(II) Complex – Antimigratory, Cytotoxic and Prooxidative Potential on Human Colon HCT-116 and Breast MDA-MB-231 Cancer Cells. *Gen Physiol Biophys* 2017; 36(2):187-196. ISSN 0231-5882, IF²⁰¹⁶ 1.170

Б. Саопштења на научним конференцијама међународног значаја, штампана у изводу (М34)

5. Živanović MN, Cvetković DM, **Košarić JV**, Ćurčić MG, Šeklić DS, Bugarčić ZM, Marković SD. Antioxidative Effects of Novel Selenium Compounds. Congress IUBMB-FEBS Sevilla, Spain. FEBS Journal - Special Issue, 2012. str. 197. ISSN: 1742-4658

В. Саопштења на научним конференцијама националног значаја, штампана у изводу (М64)

6. Živanović MN, **Košarić JV**, Šeklić DS, Cvetković D, Ćurčić MG, Sukdolak S, Marković SD. Citotoksični i antioksidativni-prooksidativni efekti derivata kumarina na ćelijskoj liniji humanog kolon kancera HCT-116. Kongres "Život sa slobodnim radikalima", Niš, 2013., knjiga sažetaka, стр. 68. ISBN: 978-86-912893-2-4.

4. Име ментора са образложењем

Веће за Природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу на седници одржаној 14.09.2016. године, донело је Одлуку број IV-01-837/17 којом је др **Снежана Марковић**, доцент у Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета у Крагујевцу, ужа научна област Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија, одређена за ментора ове докторске дисертације.

Доцент др Снежана Марковић се 24 године активно бави научно-истраживачким радом у области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија и аутор/коаутор је преко 50 научних радова (SCI) од значаја за развој научне мисли у оквиру те области. Од тога, преко 30 публикација (SCI) су резултат испитивања биолошких ефеката и молекуларних механизма деловања активних супстанци (хемијски синтетисаних и изолованих из природних материјала) на имортализованим ћелијским линијама канцера, разумевања механизма малигнитета на ћелијском и молекуларном нивоу, као и испитивања молекуларних маркера метастатске инвазивности код пацијената са канцером дојке.

Доцент др Снежана Марковић је резултате свог научно-истраживачког рада публиковала у преко 230 библиографских јединица, укупан број хетероцитата је преко 660 (SCOPUS база) са χ индексом 15; руководилац је европског FP7 пројекта (CPCTAS, GA 206809; 2008-2011. г.) и националног интердисциплинарног пројекта (ИИИ41010; 2011-2018. г.); оснивач је и активни учесник развоја Лабораторије за ћелијску и молекуларну биологију Факултета. Наставно-педагошким радом на ПМФу се бави пуних 18 година, активно је учествовала у развијању области Молекуларне биологије и молекуларне физиологије, увођењу нових курсева и усклађивању студијских програма на нивоу Србије са болоњским и европским стандардима; учесник је и један

од идејних носилаца Темпус пројекта (STERU, JEP-40053-2005). Ментор је три одбрањене докторске дисертације из области, две дисертације са процедуром за оцену и одбрану у току, једне дисертације са одобреном темом. Ментор је 20 магистарских, специјалистичких, мастер и дипломских радова.

5. Оцена о испуњености обима и квалитета докторске дисертације у односу на пријављену тему

На основу прегледаног рукописа докторске дисертације Комисија је утврдила да планирани обим експерименталног рада, научни и оквирни садржај рада, предмет, циљ и хипотезе, као и представљени резултати научно-истраживачког рада и њихов значај са становишта актуелности у области Биологије, у потпуности одговарају пријављеној теми „Испитивање молекуларних механизма дејства неких органоселенских једињења на редокс статус ћелија канцера колона НСТ-116 и дојке MDA-MB-231“, а добијени резултати представљају оригиналан научни допринос у области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија.

ПРЕДМЕТ И САДРЖАЈ УРАЂЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Рукопис докторске дисертације, кандидата **Јелене В. Кошарић**, обухвата сва поглавља предвиђена оквирним садржајем докторске дисертације. Дисертација, написана на 152 стране, обухвата следећа поглавља:

1. **Увод** (стр. 1-43) у коме су прегледом најновијих литературних података детаљно објашњени карцином дебелог црева и дојке (епидемиологија, етиологија, молекуларни механизми канцерогенезе, терапија); ћелијске линије карцинома дебелог црева и дојки као модел системи за преклиничка тестирања различитих видова терапије (цитотоксичност, механизми апоптозе, миграције и метастазе ћелија); молекуларни механизми и сигнални путеви редокс равнотеже (реактивне врсте кисеоника и азота, антиоксиданси, селено ензими укључени у редокс одговор – глутатионски и тиоредоксин системи, транскрипциони фактори укључени у редокс регулацију); терапија канцера - цитостатици.
 2. **Хипотезе и циљеви истраживања** (стр. 44-45).
 3. **Методологија истраживања** (стр. 46-62)
 - поступак рада са имортализованим ћелијским линијама канцера као модел систем испитивања у Дисертацији
 - дефинисање третмана, органоселенска једињења (OCJ) Фенилселено деривати цикличних етара: **SEL1** - 2-(фенилселенометил)тетрахидрофуран и **SEL2** - 2-(фенилселенометил)тетрахидропиран
- Бициклични селено-хидантоин и његов Pd(II) комплекс: **SEL3** - селено-хидантоин (лиганд), **SEL4** - паладијум(II) комплекс селено-хидантоина
- методологија испитивања ефеката OCJ на вијабилност и миграцију ћелија канцера, и процена цитотоксичности и антимигранаторног потенцијала третмана
 - методологија одређивања параметара редокс статуса

- методологија праћења протеинске експресије имунофлуоресцентном микроскопијом
 - методологија праћења генске експресије у реалном времену (*Quantitative / Real Time PCR*)
 - одређивање активности транскрипционих фактора Nrf2, HIF и NF-κB употребом pTRAF вектора и анализа Operetta системом.
4. **Резултати истраживања** (стр. 63-99) су детаљно објашњени и представљени са 14 Табела, 29 Графикона и 9 слика.
 5. **Дискусија** (стр. 100-1116) обухвата детаљно сагледавање и објашњење добијених резултата у односу на преглед литературе у области истраживања дисертације, а специфично у односу на следеће теме: (а) Пролиферативни vs. цитотоксични ефекти ОСЈ, (б) Ефекти ОСЈ на миграцију ћелија канцера, (в) Деловање ОСЈ на редокс систем.
 6. **Закључци** (стр. 117-118) – општи, специфични и коначни.
 7. **Литература** (стр. 119-146) обухвата 338. референци.
 8. **Прилози** (стр. 147-152) – (а) Хемијска синтеза и карактеризација испитиваних ОСЈ, и (б) Одређивање активности транскрипционих фактора Nrf2, TNFα и NF-κB употребом pTRAF вектора и анализа Operetta системом урађени на Департману за биохемију, Каролинска универзитета, Краљевина Шведска.
 9. **Остало** – сва поглавља која прате целину дисертације (Резиме на српском и енглеском језику, Скраћенице, Попис слика, табела и графикона, Биографија и библиографија кандидата) и документација у складу са одговарајућим Правилницима Факултета и Универзитета.

Хипотезе дисертације

- ❖ Анतिकанцерогена једињења не морају испољавати цитотоксични карактер, већ је некада важније да поседују антиинвазивни и антиметастатски потенцијал. Нпр. карциноми дебелог црева и дојке (због физичке доступности) у данашњим условима лако се третирају. Међутим, метастатски потенцијал ове две врсте канцера је изразит и сврстава их у изузетно агресивне. У том смислу, када је реч о третману канцера дојке и колона, садашња медицина исказује потребу за новим антиметастатским лековима.
- ❖ Органоселенска једињења, ОСЈ, позната су углавном по свом антиоксидационом дејству. Са друге стране, постоје и ОСЈ са изразито прооксидационим особинама. На основу претходног искуства и литературних података, у зависности од хемијске структуре могуће је предвидети оквирно дејство одређеног селено-једињења. Претпоставка је да ће ОСЈ координовано као лиганд у комплексу са паладијумом(II) реаговати цитотоксично и прооксидационо.
- ❖ Редокс равнотежа је веома осетљива, како у здравим, тако и у ћелијама канцера. Најмања промена било ког од многобројних параметара утиче на целу каскаду протеина и малих молекула у ћелији померајући ову равнотежу у једном од могућа два смера, прооксидационом и антиоксидационом. Стога, промена у хемијској структури ОСЈ, као и у концентрацији третмана, може изазвати сасвим другачији одговор на молекуларном нивоу ћелије.
- ❖ Хемијска једињења могу бити донори и/или акцептори електрона у зависности од хемијске структуре. Уколико одређено хемијско једињење поседује потенцијал да отпусти електрон, формирајући слободне радикале, може се очекивати системски одговор ћелије у супротном смеру. (Де)активација глутатионског система на нивоу генске и протеинске експресије значајно је модулисана утицајем примењеног хемијског једињења и утиче на судбину ћелије.

Циљ докторске дисертације је да се у *in vitro* условима испитају молекуларни механизми утицаја неких органоселенских једињења (ОСЈ) на редокс статус имортализованих ћелијских линија канцера колона НСТ-116 и дојке MDA-MB-231. Циљ је да се анализира утицај ОСЈ на: вијабилност ћелијских линија канцера; миграцију, тј. инвазивни потенцијал ћелија канцера; параметре редокс статуса; генску експресију селено-ензима глутатионског и тиоредоксин система; активност транскрипционих фактора укључених у први одговор ћелије на промене у равнотежи редокс статуса.

Специфични циљеви и методологија дисертације

- Евалуација утицаја ОСЈ на вијабилност ћелија аденокарцинома дебелог црева (НСТ-116) и дојке (MDA-MB-231), помоћу МТТ теста;
- Испитивање ефеката ОСЈ на миграторни потенцијал НСТ-116 и MDA-MB-231 ћелија, *Transwell* миграторним тестом;
- Испитивање ефеката ОСЈ на концентрацију $O_2^{\cdot-}$ (NBT тест), нитрита (Griess тест), глутатиона (GSH тест), и протеинску експресију индуцибилне азот моноксид синтетазе (iNOS, имунофлуоресцентни тест);
- Показати у којој мери испитивана ОСЈ утичу на генску експресију циљаних гена за селено-ензиме глутатион пероксидазе (*GPX1, 2, 3, 4, 6*), глутатион-S-трансферазе (*GST*) и тиоредоксин редуктазе (*TXNRD*) у НСТ-116 ћелијама, методом квантитивног PCR;
- Показати ефекте ОСЈ на активност транскрипционих фактора укључених у први редокс одговор НСТ-116 ћелија. Фокус је на испитивању транскрипционе активности Nrf2, HIF и NF- κ B и њихове међусобне повезаности, флуоресцентном методологијом трансфекције pTRAF вектора у резолуцији једне ћелије и анализом *Operetta* системом.

Резултати истраживања

- Једињења SEL1 и SEL2 стимулишу пролиферацију испитиваних ћелија, док SEL3 и SEL4 делују цитотоксично.
- ОСЈ, углавном повећавају миграторни потенцијал НСТ-116 ћелија, док на метастатским MDA-MB-231 ћелијама делују антимиграторно.
- Резултати параметара оксидационог стреса показују да једињења SEL1 и SEL2 делују антиоксидационо, док SEL3 и SEL4 делују прооксидационо.
- Експресија иРНК за *GPX1, GPX2, GPX3, GPX4* и *GPX6* гене у НСТ-116 ћелијама значајно се мења у третману са ОСЈ. SEL1 и SEL2 индукују вишу експресију ових гена у поређењу са SEL3 и SEL4.
- Експресија иРНК за *GST* ген у НСТ-116 ћелијама се мења у зависности од врсте испитиваног ОСЈ - SEL1 повећава, SEL2 инхибира, док SEL3 и SEL4 у зависности од дозе стимулишу или супримирају експресију овог гена у односу на контролне ћелије. Експресија иРНК за *TXNRD* ген је супримирана у свим третманима ОСЈ.
- Анализа утицаја испитиваних ОСЈ на активност транскрипционих фактора у НСТ-116 ћелијама показује да SEL1-4 утичу на значајно повећање експресије Nrf2, HIF и NF- κ B транскрипционих фактора.

Закључци

- Тестирана ОСЈ, у зависности од хемијске структуре, дозе и времена третмана, испољавају цитотоксични и антимигранторни потенцијал на ћелијским линијама колона НСТ-116 и дојке MDA-MB-231.
- Параметри оксидационог стреса: супероксид анјон радикал, азот моноксид, iNOS и глутатион карактеришу промене редокс статуса испитиваних ћелијских линија канцера у третману изабраним ОСЈ.
- qRT-PCR анализа генске експресије ензима важних у редокс контроли (иПНК за *GPX1*, *GPX2*, *GPX3*, *GPX4*, *GPX6*, *GST* и *TXNRD* гене) омогућила је детаљанији увид у механизам деловања ОСЈ на експресију датих гена, посебно имајући у виду њихов значај у антиоксидационој заштити ћелије.
- Флуоресцентна микроскопија у резолуцији појединачне ћелије на изучаваним ћелијским линијама уз употребу рTRAF вектора омогућила нам је детаљну анализу активности Nrf2, HIF и NF-κB транскрипционих фактора укључених у антиоксидациони одговор ћелије.

Значај резултата Дисертације

- Употреба ОСЈ у третману канцера, у зависности од хемијске структуре једињења, не мора увек да испољи цитотоксично дејство, већ се значајан напор улаже се у креирање лекова са превасходно антиметастатским дејством. Испитивана ОСЈ показују антимигранторни, самим тим и антиметастатски потенцијал.
- Редокс равнотежа је од круцијалне важности за функционисање сваке ћелије. Обзиром да се ћелије канцера налазе константно под већим оксидационим стресом од здравих ћелија, употреба оваквих и сличних ОСЈ (посебно SEL3 и SEL4) са значајним прооксидационим ефектом могу утицати на елиминисање ћелија канцера.
- Утицај ОСЈ на активност транскрипционих фактора и гена укључених у антиоксидациону заштиту ћелије веома је важан, али у исто време може представљати мач са две оштрице. Питање је како употребом лека повећати оксидациони стрес код ћелија канцера и здравих ћелија у мери у којој ће штетити само ћелијама канцера. На основу добијених резултата Дисертације, детаљно је продискутована проблематика како употребом лека повећати оксидациони стрес код ћелија канцера и здравих ћелија у мери у којој ће штетити само ћелијама канцера.

6. Применљивост и корисност резултата у теорији и пракси

Коришћењем методологије описане у овој докторској дисертацији, може се закључити да је хемијска структура одређене испитиване супстанце од кључне важности за разумевање њеног утицаја на живе модел системе ћелијских линија. Наиме, SEL1 и SEL2 су фенилселено етри док су SEL3 и SEL4 бициклични фенилселено хидантоини. SEL1 и SEL2 имају хемијски сличну структуру, у смислу да је SEL1 тетрахидрофурански а SEL2 тетрахидропирански селенодериват. SEL3 и SEL4 припадају посебној групи једињења. SEL3 је органоселенско једињење хидантоинског типа и представља лиганд којим је координован паладијум(II) при чему је добијен

комплекс, SEL4. Обзиром да ова четири једињења могу да се поделе у две различите класе органских једињења, резултати интензивног биолошког тестирања приказани у овој дисертацији показују разлику у постигнутим ефектима. SEL1 и SEL2 делују антиоксидационо и нецитотоксично; SEL3 и SEL4 делују прооксидационо и цитотоксично; сва 4 ОСЈ првенствено делују антимиграторно на MDA-MB-231 метастатским ћелијама; утврђена је експериментална синергија хемијских структура, индукције синтезе реактивних врста, генске и протеинске експресије са особинама третираних ћелија – вијабилност и миграторни потенцијал.

Корисност ових резултата пре свега лежи у расветљавању једног сложеног молекуларног механизма одговора ћелије на спољни утицај третмана хемијским супстанцама. Било који третман неким леком изазива каскаду веома сложених молекуларних промена унутар ћелије. Још значајнији закључак лежи у чињеници да анализа више сличних супстанци даје један модел могућег ефекта, тј. даје одређени ниво предвидивости, који свакако зависи од типа ћелије и многих других фактора. Посебан допринос оваквих истраживања јесте у чињеници да молекуларна биологија може да обезбеди повратну информацију синтетичкој хемији у смислу предлагања нових, више или мање сличних структура хемијских супстанци које се могу користити у третману канцера. Овакве студије доприносе суштинском интердисциплинарном напору у решавању великих здравствених изазова.

7. Начин презентовања резултата научној јавности

Резултати докторске дисертације су презентовани јавности као публикације у научним часописима и као презентације на конференцијама међународног значаја. **До сада су из докторске дисертације кандидата публикована два рада у међународним научним часописима категорије M23, и 1 саопштење на међународном научном скупу (M34).** Осим наведених публикација, све референце у оквиру библиографије кандидата директно су везане за методологију и област испитивања дисертације - преклиничка тестирања хемијских биоактивних супстанци на ћелијским линијама канцера.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу прегледаног рукописа и достављеног материјала, Комисија сматра да је докторска дисертација кандидата **Јелене В. Кошарић**, дипломираног биолога, под насловом *„Испитивање молекуларних механизма дејства неких органоселенских једињења на редокс статус ћелија канцера колоне НСТ-116 и дојке MDA-MB-231“*, проистекла из оригиналног научно-истраживачког рада и да је заснована на савременим научним сазнањима са фундаменталним теоријским значајем у науци и широком потенцијалном применом у пракси.

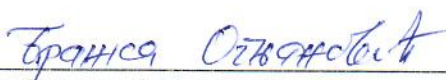


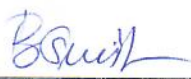

Резултати научно-истраживачког рада кандидата **Јелене В. Кошарић** публиковани су у укупно 6 библиографских јединица. Део резултата истраживања у оквиру докторске дисертације публикован је у виду 2 научна рада у међународним научним часописима (М23), и 1 саопштења на међународном научном скупу (М34).

Комисија сматра да су испуњени сви научни, стручни и административни услови за прихватање наведене докторске дисертације као оригиналног научног рада.

На основу наведених чињеница предлажемо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу да прихвати докторску дисертацију кандидата **Јелене В. Кошарић**, под називом „Испитивање молекуларних механизма дејства неких органоселенских једињења на редокс статус ћелија канцера колона НСТ-116 и дојке MDA-MB-231“, и спроведе даљу процедуру у циљу одобравања одбране докторске дисертације.

У Крагујевцу, 21.05.2018. године

Комисија

- 
-
- 1 **Др Бранка Огњановић, редовни професор**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија
- 
-
- 2 **Др Зорица Бугарчић, редовни професор, председник Комисије**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Органска хемија
- 
-
- 3 **Др Марко Живановић, научни сарадник**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
научна област: Биологија
- 
-
- 4 **Др Биљана Шмит, виши научни сарадник**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
научна област: Хемија
- 
-
- 5 **Др Јелена Ракобровић, научни сарадник**
Институт за онкологију и радиологију Србије
научна област: Молекуларна биологија
ужа научна област: Молекуларна генетика