

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ -  
БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА**

На V редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 13.03.2020. године, на молбу ментора др Тијане Б. Радовановић, вишег научног сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић” – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду и др Синише Ф. Ђурашевића, ванредног професора Биолошког факултета Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације кандидата Mohammeda (Melad Lamin) Nasie под насловом:

”The effects of pyrethroid insecticide deltamethrin on oxidative stress parameters in different tissues of green toad (*Bufo viridis*)”;

„Ефекти пиретроидног инсектицида делтаметрина на параметре оксидативног стреса у различитим ткивима зелене краставе жабе (*Bufo viridis*)”

у саставу:

1. Др Тијана Б. Радовановић, виши научни сарадник, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић” – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду
2. Др Синиша Ф. Ђурашевић, ванредни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду
3. Др Слађан З. Павловић, научни саветник, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић” – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду
4. Др Имре И. Кризманић, доцент, Биолошки факултет, Универзитет у Београду
5. Др Бранка Р. Гавриловић, виши научни сарадник, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић” – Институт од националног значаја за Републику Србију, Универзитет у Београду

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета подноси следећи

## ИЗВЕШТАЈ

### Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Mohammeda (Melad Lamin) Nasie под насловом:

”The effects of pyrethroid insecticide deltamethrin on oxidative stress parameters in different tissues of green toad (*Bufo viridis*)”.

„Ефекти пиретроидног инсектицида делтаметрина на параметре оксидативног стреса у различитим ткивима зелене краставе жабе (*Bufo viridis*)”

написана је на 118 страна и садржи 38 фигура (10 у поглављу Увод, 3 у поглављу Материјал и методе и 25 у поглављу Резултати) и 27 табела (у поглављу Резултати). Текст докторске дисертације је подељен на седам поглавља: 1. Увод (19 страна), 2. Циљеви истраживања (2 стране), 3. Материјал и методе (12 страна), 4. Резултати (55 страна), 5. Дискусија (13 страна), 6. Закључци (3 стране) и 7. Литература (14 страна). Поглавље Литература садржи 223 библиографске јединице. Дисертација садржи Насловну страну на енглеском и српском језику, Страну са подацима о менторима и члановима комисије на енглеском и српском језику, Захвалницу, Стране са подацима о докторској дисертацији на енглеском и српском језику (Сажетак, Кључне речи, Научна област, Ужа научна област и УДК број), Скраћенице, Садржај, Текст рада по поглављима, Биографију аутора, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјаву о коришћењу.

### Анализа докторске дисертације

Поглавље **Увод** на систематичан начин даје преглед досадашњих сазнања о општем утицају пестицида на значајно смањење бројности водоземаца као и приказ најчешће коришћених пестицида. Такође, дати су подаци о основним карактеристикама делтаметрина (ДМ) и објашњен је механизам његовог дејства. Објашњава се појам и формирање реактивних врста кисеоника (ROS) и описује механизам настанка оксидативних оштећења и оксидативног стреса. На основу најновијих литературних података дате су информације о следећим испитиваним параметрима: супероксид-дисмутази (SOD), каталази (CAT), глутатион-пероксидази (GSH-Px), глутатион-редуктази (GR), глутатиону (GSH), слободним сулфхидрилним (-SH) групама, ензимима биотрансформације (цитохрому P4501A (CYP1A) и глутатион-

S-трансферази (GST)), као и о параметрима липидне пероксидације и неуротоксичности (TBARS и холинестераза (ChE)). Дат је литературни приказ утицаја пестицида на наведене биохемијске параметре као и начин и обим у ком су водоземци коришћени у екотоксиколошким студијама. На крају овог поглавља изложене су основне карактеристике испитиване врсте зелене краставе жабе (*Bufo viridis*).

У оквиру поглавља **Циљеви истраживања** укратко су представљени главни циљеви докторске дисертације: да се испита да ли и у ком обиму пиретроидни инсектицид делтаметрин модулира одабране параметре оксидативног стреса у јетри, кожи, мишићу и гастроинтестиналном ткиву адултних јединки врсте *Bufo viridis*; да ли постоје разлике у испитиваним параметрима зависно од концентрације пестицида, дужине и начина излагања; утврђивање потенцијалних ткивних разлика, као и да се одреди концентрација делтаметрина у јетри; да се утврди који би биомаркери били еколошки значајни у екотоксиколошким студијама изложености делтаметрину као и да се побољша опште знање о утицају овог пестицида на адултне терестричне водоземце који су веома мало били предмет оваквих истраживања. Симулирањем сличних услова под којима се делтаметрин иначе користи (начин апликације) приликом запрашивања комараца, циљ је да се утврди у којој мери примена овог препарата делује на једну угрожену и строго заштићену врсту.

У оквиру поглавља **Материјал и методе** описан је начин узимања узорака као и карактеристике Националног парка “Фрушка гора” са којег су узорковане жабе. У истраживању су коришћене адултне јединке зелене краставе жабе *Bufo viridis*. Мерена је дужина и маса сваке уловљене јединке и изолована су следећа ткива: јетра, мишић, кожа и гастроинтестинално ткиво. Након стандардних лабораторијских протокола припреме ткива: хомогенизовања, сонификовања и центрифугирања, урађена је биохемијска анализа параметара антиоксидативног система: активности SOD, CAT, GSH-Px, GR и ензима фазе I и II биотрансформације (експресија CYP1A и активност GST), концентрације GSH, TBARS и SH група, као и активност ChE. Поред наведених биохемијских анализа, мерена је и концентрација делтаметрина у ткиву јетре.

Статистичке методе које су коришћене за обраду добијених података укључују једнофакторијалну анализу варијансе (ANOVA) уз пост хок тестирање коришћењем параметријског Фишевог LSD теста, Анализу главних компоненти (PCA) и

Канонијску дискриминантну анализу, а за утврђивање везе између биомаркера примењене су Пирсонове корелације. Одређен је и интегрисани одговор биомаркера (ИБР) као мера свеобухватног биохемијског одговора на излагање пестициду.

Приказ **Резултата** организован је у складу са постављеним циљевима. Резултати су приказани концизно, уз прегледне табеле и графике са објашњењима у легендама. Најважнији експериментални резултати изнети у овој докторској дисертацији обухватају више целина. У првом делу резултата дати су подаци о концентрацији делтаметрина у ткиву јетре, као и резултати биометријских, биотрансформационих параметара и параметара оксидативног стреса и неуротоксичности после акутног излагања пестициду у трајању од 96 сати. У другом делу резултата приказани су подаци који се тичу свих горенаведених испитиваних параметара након хроничног излагања делтаметрину 7, 14 и 21 дан. Овај део је подељен на три подцеле у којима су представљени резултати у односу на начин апликовања пестицида: орални, дермални и комбиновани начин (орално + дермално). У делу резултата који се односи на хроничну оралну апликацију пестицида дати су подаци о интегрисаном одговору биомаркера у ткиву јетре. Такође су представљени резултати за Канонијску дискриминантну анализу свих наведених параметара у испитиваним ткивима за три начина хроничне апликације пестицида.

У поглављу **Дискусија** добијени резултати су на критички начин анализирани и повезани са ранијим истраживањима групе у оквиру које је кандидат урадио експериментални део докторске дисертације и тумачени у контексту досадашњих података из литературе који су у вези са предметом истраживања којим се кандидат бави у својој дисертацији.

Комисија, пратећи изложене функционалне целине, истиче и анализира најзначајније резултате који су добијени у овој докторској дисертацији.

Установљено је да су животиње изложене делтаметрину развиле ткивно-специфичне адаптивне реакције како би заштитиле организам од насталог оксидативног стреса. Ове реакције не показују једноличан образац и вероватно су последица или неједнаке брзине стварања слободних радикала или различите дистрибуције делтаметрина у различитим ткивима. Након 21ог дана примене испитиван пестицид није детектован у ткиву јетре. Истраживања кандидата су потврдила да овај пестицид не показује тенденцију биоакумулације у ткивима жабе

услед свог брзог метаболизма. Одсуство промене активности GST-а у јетри *B. viridis*, после акутне примене делтаметрина, забележено је симултано са индукцијом CYP1A. Добијени резултати потврђују да су CYP ензими у јетри укључени у главни пут метаболизма ДМ.

Ова студија потврдила је значај ензима SOD, CAT и GSH-Px као прве линије одбране против оксидативних оштећења. Активност SOD и GSH-Px није била повећана у јетри током акутне примене ДМ-а, након чега је уследило нарушавање оксидативног статуса сулфхидрилних група и настанак липидне пероксидације. Током хроничне примене ДМ-а, SOD и CAT су имале повећане активности у јетри. Ова координирана акција била је довољна да се носи са генерисаним оксидативним стресом, те није примећено повећање концентрације TBARS.

Након акутне примене делтаметрина, откривен је највећи број корелација између ензима у јетри и гастроинтестиналном ткиву. Добијени резултати указују на то да су ова два ткива показала висок степен координације антиоксидативних параметара: јетра као главно место складиштења, биотрансформације и излучивања пестицида и гастроинтестинално ткиво као прва линија контакта са орално апликованим пестицидом. Ипак, без обзира на добру корелацију и реципроцитет испитиваних параметара, након акутне изложености, оксидативним стресом је највише било погођено ткиво јетре, на шта указују варијације у концентрацији -SH група и TBARS. Најмањи број корелација добијен је у ткиву коже, што се и очекивало, узимајући у обзир да је реч о периферном ткиву.

Кандидат је истакао узрочно-последичну везу између времена изложености пестициду и испитиваних биомаркера. Након хроничне оралне примене ДМ-а кандидат је закључио да је већина испитиваних параметара у гастроинтестиналном ткиву показивала значајно повећање 7 дана после примене пестицида (CAT, GSH-Px, GST активности и концентрације -SH група и TBARS). Овај образац понашања испитиваних параметара кандидат објашњава чињеницом да се ДМ брзо апсорбује након оралне примене и да је ово ткиво прва тачка контакта са пестицидом. Показано је да је антиоксидативна стратегија *Bufo viridis* заснована на коришћењу SOD-а током продужене изложености ДМ-у. Током хроничне дермалне апликације, примењена дискриминантна анализа открила је дисоцијацију SOD-а од других биомаркера у јетри, мишићима и гастроинтестиналном ткиву. Као и у оралном моделу излагања, овај је

ензим имао значајну улогу у антиоксидативној одбрани против дуготрајне изложености пестициду. После комбинованог начина апликације пестицида није било могуће опазити било какву правилност у промени испитиваних физиолошких параметара.

У поглављу **Закључци** сумирани су најзначајнији резултати докторске дисертације који су јасно и таксативно наведени. Истраживања ове докторске дисертације показују да апликација пиретроидног инсектицида делтаметрина индукује одговор испитиваних параметара (активности SOD, CAT, GSH-Px, GR, ензима фазе II биотрансформације GST, ChE, затим концентрације GSH, -SH група, TBARS као и експресију CIP1A) у јетри, мишићу, кожи и гастроинтестиналном ткиву адултне јединке зелене краставе жабе *Bufo viridis*. Добијени подаци указују да је оксидативни стрес укључен у механизам дејства делтаметрина и да нарушено функционисање параметара антиоксидативне заштите доводи до оштећења биомолекула у ткивима животиња. Детектовање одговора параметара антиоксидативне заштите у ткивима зелених краставих жаба показује да се ови параметри могу користити као поуздани биомаркери у процени раног одговора на појаву интоксикације делтаметрином. Истраживања која су обављена у овој докторској дисертацији пружају велики допринос на пољу екотоксикологије терестричних адултних водоземаца.

У поглављу **Литература** дата је листа од 223 библиографске јединице које представљају најважније изворе који су од значаја за тему докторске дисертације. За адекватно објашњење резултата коришћена је најновија научна литература.

## **Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације**

### **Б1. Радови у часописима међународног значаја**

1. Radovanović, T.B., **Nasia, M.**, Krizmanić, I.I., Prokić, M.D., Gavrić, J.P., Despotović, S.G., Gavrilović, B.R., Borković-Mitić, S.S., Pavlović, S.Z. and Saičić, Z.S. (2017): Sublethal effects of the pyrethroid insecticide deltamethrin on oxidative stress parameters in green toad (*Bufo viridis* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36, 2814-2822, **M21**.

<https://setac.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/etc.3849>

2. **Nasia, M.**, Radovanović, T.B., Krizmanić, I.I., Prokić, M.D., Gavrić, J.P., Despotović, S.G., Gavrilović, B.R., Borković-Mitić, S.S., Pavlović, S.Z. and Saičić, Z.S. (2018): Prooxidant effects of chronic exposure to deltamethrin in green toad *Bufo viridis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 30597–30608, **M22**. <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11356-018-2979-x>

### **Провера оригиналности докторске дисертације**

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације аутора Mohammeda Nasie под називом „Ефекти пиретроидног инсектицида делтаметрина на параметре оксидативног стреса у различитим ткивима зелене краставе жабе (*Bufo viridis*)”, констатује се да утврђено подударање текста износи 25%. Овај степен подударности последица је тзв. општих места и података и скраћеница назива хемикалија, уређаја и ензима, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

## Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација Mohammeda (Melad Lamin) Nasie, под насловом

”The effects of pyrethroid insecticide deltamethrin on oxidative stress parameters in different tissues of green toad (*Bufo viridis*)”,

„Ефекти пиретроидног инсектицида делтаметрина на параметре оксидативног стреса у различитим ткивима зелене краставе жабе (*Bufo viridis*)”

представља оригиналан научни рад са јасно осмишљеним, дефинисаним и оствареним циљевима. Докторска дисертација је у потпуности урађена и написана у сагласности са предложеним програмом у одобреној пријави. У овој докторској дисертацији коришћене су савремене експерименталне методе. По свом садржају и форми, добро написаном уводном делу, јасно постављеним истраживачким циљевима, добро осмишљеној методологији, прецизно изнетим резултатима рада, разложној дискусији и добро формулисаним закључцима ова докторска дисертација испуњава све критеријуме добро написаног научног рада.

На основу свега изложеног, комисија закључује да је предвиђени предмет истраживања ове докторске дисертације веома актуелан и да даје релевантан одговор на постављене циљеве. Добијени резултати представљају значајан научни допринос јер су то први подаци о ефекту акутне и хроничне изложености зелене краставе жабе *Bufo viridis* пиретроидном пестициду делтаметрину уз аспект сагледавања механизма оксидативног стреса насталог апликацијом пестицида на три начина-орална, дермална и комбинована (орално-дермална) апликација. Остварени резултати објављени су у оквиру два оригинална научна рада, што потврђује актуелност и значајност добијених резултата.

Свеобухватни приступ показао је да токсичност изазвана делтаметрином зависи од дозе, начина и времена апликације пестицида. Јединке су створиле специфичне адаптивне реакције ткива у циљу одбране ћелија од резултирајућег оксидативног стреса.



Комисија оцењује да је докторска дисертација кандидата Mohammeda (Melad Lamin) Nasie квалитетно, оригинално и самостално научно дело и предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри њену јавну одбрану.

У Београду, 16.03.2020. године

**КОМИСИЈА:**

---

Др Тијана Б. Радовановић, виши научни сарадник,  
Институт за биолошка истраживања „Синиша  
Станковић” – Институт од националног  
значаја за Републику Србију, Универзитет у  
Београду

---

Др Синиша Ф. Ђурашевић, ванредни професор,  
Биолошки факултет, Универзитет у Београду

---

Др Слађан З. Павловић, научни саветник, Институт  
за биолошка истраживања „Синиша  
Станковић” – Институт од националног  
значаја за Републику Србију, Универзитет у  
Београду

---

Др Имре И. Кризманић, доцент, Биолошки  
факултет, Универзитет у Београду

---

Др Бранка Р. Гавриловић, виши научни сарадник,  
Институт за биолошка истраживања „Синиша  
Станковић” –Институт од националног  
значаја за Републику Србију, Универзитет у  
Београду