

**Универзитет у Крагујевцу**  
**Факултет медицинских наука**  
**Наставно-научном већу**



**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О  
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ  
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број **IV-03-451/17** од **09.06.2021.** формирана је комисија за оцену завршене докторске дисертације Драгане Арсенијевић под називом:

„Антиинфламацијска активност смеше дипропил полисулфида у експерименталном моделу акутног хепатитиса“ у саставу:

1. Доц. др **Маја Милојевић-Ракић**, доцент Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду за ужу научну област Физичка хемија-контрола и заштита животне средине, председник
2. Проф. др **Драган Манојловић**, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Аналитичка хемија, члан
3. Проф. др **Владислав Воларевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Медицинска генетика, члан

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Драгане Арсенијевић и подноси Наставно-научном већу следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

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

Докторска дисертација под називом „Антиинфламацијска активност смеше дипропил полисулфида у експерименталном моделу акутног хепатитиса“ коју је израдила Драгана Арсенијевић под менторством проф. др Марије Миловановић, ванредног професора Факултета Медицинских наука у Крагујевцу, представља оригинално научно дело. Истраживање је урађено са циљем да се испита потенцијални антиинфламацијски и хепатопротективни ефекат смеше дипропил полисулфида у моделу акутног хепатитиса мишева изазваног интравенском применом конканавалина А.

Конканавалин А (енгл. *Concanavalin A*, Con A) је лектин изолован из биљке *Canavalia ensiformis*. Tiegs и сарадници су 1992. године описали експериментални модел акутног инфламацијског оштећења јетре изазваног конканавалином А, који се преко рецептора за инсулин селективно депонује у јетри. У патогенези Con A хепатитиса главну улогу играју Т лимфоцити, NKT ћелије и Купферове ћелије. Активирани помагачки Т лимфоцити и NKT ћелије директним цитотоксичким ефектом или индиректно продукцијом цитокина (TNF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , IL-17, IL-4) оштећују хепатоците. Болест карактерише развој значајне инфламације, некроза ткива јетре праћена повећањем концентрације трансминаза у серуму и често терминална инсуфицијенција.

Биљке рода *Allium*, као што су бели и црни лук, користе се од давнина у исхрани, народној медицини и фитотерапији. Бројни биолошки ефекти ових биљака, као што су: антимикуробни, антиканцерогени, антиоксидантни, кардиопротективни, антиагрегациони приписује се органосумпорним једињењима (ОСЈ). У белом и црном луку углавном могу да се детектују органосумпорна једињења која садрже до пет атома сумпора, док су сулфиди са шест или више атома сумпора присутни у веома малим, недетектабилним концентрацијама. Заштитни ефекти примене различитих формулација белог лука (свежи бели лук, уљани раствори, екстракти белог лука, изолованих или синтетисаних ОСЈ) показани су у различитим моделима обољења јетре. Ове ефекте ОСЈ остварују повећавајући активност ензима II фазе (антиоксидативних ензима), важних за детоксикацију канцерогена: глутатион-S-трансферазе, хинон редуктазе, каталазе, глутатион пероксидазе, супероксид дисмутазе и епокси хидролазе и инхибирајући ензиме I фазе, као што је цитохром P450 (енгл. *cytochromes* P450, CYP) фамилија ензима, који активирају многе хемијске карциногене.

Како је већи број атома сумпора у органосумпорним једињењима удружен са значајно већом антимикуробном, антиоксидативном и антитуморском активношћу, у овој студији је испитиван антиинфламацијски ефекат смеше дипропил полисулфида, који у својој структури имају од 2 до 11 атома сумпора, у моделу акутног хепатитиса изазваног конканавалином А. Подаци ранијих студија указују на то да органосумпорна једињења богатија атомима сумпора имају већи потенцијал евентуалног терапијског дејства, због чега је ово истраживање и спроведено.

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

Увидом у доступну литературу прикупљену детаљним и систематским претраживањем великих база података (*PubMed*, *Cohrane data base*, *Google Scholar*) користећи кључне одреднице: „*dipropyl polysulfides*“, „*organosulfur compounds*“, „*garlic*“, и међусобним укрштањем сваке од наведених одредница са одредницама „*hepatitis*“, „*Con A*“, „*liver*“ нису нађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. На основу наведених чињеница комисија закључује да је докторска дисертација Драгане

Арсенијевић под називом „Антиинфламацијска активност смеше дипропил полисулфида у експерименталном моделу акутног хепатитиса“ проистекла из оригиналног научног истраживања.

### 2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

#### А) Лични подаци

Драгана (Ђорђевић) Арсенијевић

Рођена 23.05.1990. године у Приштини. Основну школу и Прву крагујевачку гимназију завршила у Крагујевцу. Интегрисане академске студије Фармације, универзитета у Крагујевцу уписала 2009/2010. Успешно завршила 2013/2014 године са просечном оценом 8,69. Школске 2014/2015 уписала Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, изборно подручје Имунологија, инфекција и инфламација. Положила усмени докторски испит, оцена 9. Од 2016. године обавља посао сарадника у настави на предмету Основи физичке хемије. Активно учествује у извођењу експеримената у Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија на Факултету медицинских наука у Крагујевцу.

Члан је Подружнице Друштва имунолога за Централну Србију.

#### Б) Списак објављених радова

1. **Arsenijevic D**, Stojanovic B, Milovanovic J, Arsenijevic A, Simic M, Pergal M, Kodranov I, Cvetkovic O, Vojvodic D, Ristanovic E, Manojlovic D, Milovanovic M, Arsenijevic N. Hepatoprotective Effect of Mixture of Dipropyl Polysulfides in Concanavalin A-Induced Hepatitis. *Nutrients*. 2021;13(3):1022. **M21**
2. **Djordjevic D**, Milovanovic J, Jurisevic M, Stojanovic B, Cvetkovic O, Pergal M, Ristic E, Vojvodic D, Milos S, Manojlovic D, Milovanovic M, Arsenijevic N. Anti-tumor effect of n-propyl polysulfides mixture in vitro. *Ser J Exp Clin Res*. 2019;20(4):295-300. **M51**
3. Konovalov B, Živković M, Milovanović J, **Djordjević D**, Arsenijević A, Vasić I, Janjić G, Franich A, Manojlović D, Skrivanj S, Milovanović M, Djuran M, Rajković S Synthesis, cytotoxic activity and DNA interaction studies of new dinuclear platinum(ii) complexes with an aromatic 1,5-naphthyridine bridging ligand: DNA binding mode of polynuclear platinum(ii) complexes in relation to the complex structure. *Dalton Trans*. 2018;47(42):15091-15102. **M21**

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

Докторска дисертација Драгане Арсенијевић се састоји из основног докторског рада који је написан на 69 страница, насловне странице на српском и енглеском језику, идентификационе странице, структурисаног апстракта на српском и енглеском језику и садржаја. Дисертација се састоји из следећих основних поглавља: Увод, Циљ истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Сви делови дисертације, почев од наслова, дефинисања научног проблема, постављених циљева за њихову проверу и спроведене комплексне методологије се у потпуности поклапају са одобреним пројектом овог истраживања.

У поглављу Увод написана су основна досадашња знања о моделу инфламацијског оштећења јетре које настаје након примене конканавалина А. Описана је улога различитих ћелија имунског система и механизми којима ове ћелије узрокују оштећење. Описан је протективни ефекат различитих формулација белог и црног лука у различитим обољењима, са посебним освртом на механизам заштите у обољењима јетре.

Јасно је постављен циљ (показивање антиинфламацијског и хепатопротективног ефекта смеше DPPS) и задаци истраживања (утицај оралне примене смеше дипропил полисулфида на фенотип интрахепатичних Т лимфоцита и ћелија које презентују антигене, и анализиран утицај претретмана смешом дипропил полисулфида на хистолошке и серумске параметре оштећења јетре и тежину хепатитиса изазваног конканавалином А, експресију про- и анти- оксидативних ензима у јетри, активацију ендотела и профил цитокина у јетри мишева са Con A хепатитисом на састав и фенотипске карактеристике имунских ћелија које инфилтришу јетру мишева са Con A хепатитисом).

У поглављу Материјал и методе описана је синтеза смеше DPPS и процес индуковања Con A хепатитиса. У експериментима је коришћено 269 мужјака мишева соја C57BL/6, старости 6 до 8 недеља. Процена степена оштећења јетре утврђена је мерењем концентрације аспартат- аминотрансаминазе (AST) у серуму као и хистопатолошким анализом јетре. Апоптоза хепатоцита одређена је бојењем исечака јетре TUNEL методом. Цитокини у ткивима јетре одређени су ELISA методом, експресија адхезивних молекула и ензима RT PCR методом, док су мононуклеарне ћелије јетре анализирани проточном цитометријом.

Резултати су описани текстуално и поткрепљени са 5 слика, 6 схема, 17 графика и 1 табелом. Приказани резултати јасно истичу добијене ефекте и укључују нивое статистичке значајности разлика између експерименталног и контролног материјала. Резултати су показали да превентивна примена смеше DPPS значајно ублажава инфламацију и оштећење јетре које узрокује Con A, на шта указују биохемијски и патохистолошки параметри. Код мишева који су превентивно примили смешу DPPS ниво информационе РНК адхезионих молекула и комплекса NADPH оксидазе значајно је смањен, док је ниво експресије различитих субјединица антиоксидантног SOD ензима повећан. Смањена је концентрација инфламацијских, а повећана концентрација

антиинфламацијског цитокина, IL-10, као и проценат регулаторних Т лимфоцита у јетрама мишева третираних DPPS-ом пре интравенске инјекције Con A.

У поглављу Дискусија обухваћена су поређења и критичка анализа добијених налаза са објављеним резултатима из ове области. Литературни подаци су адекватно цитирани.

## 2.5. Научни резултати докторске дисертације

Претретман смешом дипропил полисулфида смањује оштећење јетре C57BL/6 мишева изазвано интравенском инјекцијом Con A.

- Претретман смешом дипропил полисулфида повећава проценат активираних и регулаторних макрофага и дендритских ћелија у јетри.
- Претретман смешом дипропил полисулфида значајно смањује хистолошке и серумске параметре оштећења јетре изазвано интравенском применом Con A.
- Смеша дипропил полисулфида значајно смањује експресију (ниво иРНК) молекула ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1 и Р-селектина у ткиву јетре мишева са Con A хепатитисом, што указује на супресију активације ендотела у јетри.
- Смеша дипропил полисулфида значајно смањује концентрацију инфламацијских цитокина TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-12 и IL-17, а повећава концентрацију антиинфламацијског IL-10 у ткиву јетре мишева са Con A хепатитисом.
- Претретман смешом дипропил полисулфида смањује експресију p22<sup>phox</sup>, p47<sup>phox</sup> и p67<sup>phox</sup>, а повећава експресију SOD1, SOD2 и SOD3 ензима што указује на хепатопротективни ефекат ове смеше.
- Смеша дипропил полисулфида у јетри мишева са Con A хепатитисом повећава проценат регулаторних, а смањује проценат CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> ћелија које експримирају IL-17.

## 2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Резултати ове студије указују да би синтетисана смеша дипропил полисулфида могла да буде потенцијални терапеутик са хепатопротективним дејством у акутним инфламацијским болестима јетре и указују на потребу даљег испитивања ове смеше.

## **2.7. Начин презентовања резултата научној јавности**

До сада су резултати, који су добијени у оквиру овог истраживања, публиковани у једном раду објављеном у међународном часопису M21 категорије.

**Arsenijevic D, Stojanovic B, Milovanovic J, Arsenijevic A, Simic M, Pergal M, Kodranov I, Cvetkovic O, Vojvodic D, Ristanovic E, Manojlovic D, Milovanovic M, Arsenijevic N.** Hepatoprotective Effect of Mixture of Dipropyl Polysulfides in Concanavalin A-Induced Hepatitis. *Nutrients*. 2021;13(3):1022.

## ЗАКЉУЧАК

Докторска дисертација под називом „Антиинфламацијска активност смеше дипропил полисулфида у експерименталном моделу акутног хепатитиса“ коју је израдила Драгана Арсенијевић под менторством проф. др Марије Миловановић, ванредног професора Факултета медицинских наука у Крагујевцу, представља оригинално научно дело.

Истраживање је спроведено са циљем да се испита ефекат превентивне примене смеше дипропил полисулфида у експерименталном моделу акутног, инфламацијског оштећења јетре. Добијени резултати по први пут показују да орална примена смеше дипропил полисулфида пре индукције Соп А хепатитиса значајно смањује смрт хепатоцита, оштећење паренхима јетре и концентрацију аланин трансферазе у серуму. Терапијски ефекат претретмана смешом дипропил полисулфида у Соп А хепатитису остварен је: индукцијом регулаторног фенотипа ћелија које презентују антигене у ткиву јетре; инхибицијом активације ендотела у јетри, што за последицу има смањење инфламације, а што се огледа у смањеној концентрацији инфламацијских цитокина и смањеним процентом инфламацијских CD4+ и CD8+ ћелија у ткиву јетре; смањењем експресије про- и повећањем експресије анти- оксидативних ензима чиме се постиже хепатопротективни ефекат.

Због тога Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Антиинфламацијска активност смеше дипропил полисулфида у експерименталном моделу акутног хепатитиса“, кандидата Драгане Арсенијевић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

### ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Доц. др Маја Милојевић-Ракић, доцент Факултета за физичку хемију Универзитета у Београду за ужу научну област Физичка хемија-контрола и заштита животне средине, председник



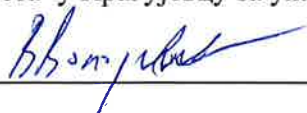
---

2. Проф. др Драган Манојловић, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Аналитичка хемија, члан



---

3. Проф. др Владислав Воларевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Медицинска генетика, члан



---