

Милицији саопштан  
26.08.2014

Упр. Снежк Снежак

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ			
Датум: 01.08.2014			
О. бр.	Број	ПРИСТУПЕНИЦИ	
04	680/5	-	-

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ  
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ И  
СТРУЧНОМ ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ  
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ**

На редовној седници одржаној 11.06.2014. године, Наставно-научно веће Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, на основу члана 129. Статута Универзитета у Крагујевцу и члана 92. Статута Природно-математичког факултета, одлуком број 560/VII-2 именовало је Комисију за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом “Молекуларни механизми апоптозе у ћелијама карцинома колона након *in vitro* третмана екстрактима лековитих биљака” кандидата **Милена Ђурчић**, дипломираног биолога, у следећем саставу:

1. Др Андраш Штајн, редовни професор, ПМФ Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија;
2. Др Марина Топузовић, ванредни професор, ПМФ Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Морфологија, систематика и филогенија биљака;
3. Др Снежана Марковић, доцент, ПМФ Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија – ментор;
4. Др Милица Пешић, виши научни сарадник, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Универзитет у Београду, научна област Биологија, ужа научна област Молекуларна неуробиологија и Молекуларна онкологија.

На основу приложене 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 **Милена Ђурчић**, дипломирани биолог је сагласно Правилнику о пријави, изradi и одбрани докторске дисертације Универзитета у Крагујевцу, одлуци 310/XIV-2 Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу од 24.04.2013. године, одлуци 334-6 Стручног већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу од 12.06.2013. године и одлуци 560/VII-2 Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу од 11.06.2014. године поднела рукопис докторске дисертације под насловом “Молекуларни механизми апоптозе у ћелијама карцинома колона након *in vitro* третмана екстрактима лековитих биљака”.

**Преглед садржаја урађене докторске дисертације**

Урађена докторска дисертација кандидата **Милена Ђурчић** садржи следећа поглавља: Извод на српском и енглеском језику, Увод, Циљ истраживања, Материјал и методе истраживања, Резултате, Дискусију, Закључке, Литературу, Прилоге и Биографију.

У **Уводном** делу докторске дисертације кандидат је у оквиру четири поглавља, а на основу литературних података детаљно изложио:

У првом поглављу Увода изнети су литературни подаци о молекуларним механизмима процеса канцерогенезе, са посебним освртом на колоректални карцином, терапију тумора, појаву резистенције малигнућ хелија на антитуморске супстанце, као и различите стратегије у лечењу ове болести;

Други део Увода прати литературне податке који објашњавају молекуларне механизме процеса апоптозе, као и могућност индукције апоптозе у терапији тумора;

Трећи део Уводног излагања детаљно се бави молекуларним механизмима оксидационо-антиоксидационог метаболизма у хелијама и организму, са објашњењима одговарајућих параметара оксидационо-антиоксидационог система, као и ензима укљученим у метаболизам лекова и појаву резистенције малигнућ хелија на антитуморске агенсе;

Четврти део увода садржи концизно представљене литературне податке о биолошким ефектима биљака и њихових изолованих једињења са посебним освртом на антитуморска и антиоксидациона својства биљака, као и морфолошке и систематске карактеристике изабраних врста биљака из флоре Србије (*Teucrium chamaedrys* L., *Allium flavum* L., *Gentiana punctata* L., *Ligustrum vulgare* L. и *Centaurium erythrea* Rafn.), њихову употребу у народној медицини, као и литературне податке о постигнутим биолошким ефектима.

На основу наведених литературних података, у поглављу **Циљ истраживања** постављени су општи циљеви докторске дисертације:

- Испитивање антитуморског потенцијала екстраката лековитих биљака флоре Србије, традиционално коришћених у третманима различитих дигестивних поремећаја (*Teucrium chamaedrys*, *Allium flavum*, *Gentiana punctata*, *Ligustrum vulgare* и *Centaurium erythrea*) на НСТ-116 и SW480 хелијама колоректалног карцинома и здравим фибробластима коже.
- Испитивање потенцијалних синергистичких ефеката екстраката биљака *A. flavum* и *G. punctata* и новосинтетисаног Pd(II) комплекса.
- Испитивање молекуларних механизма проапоптотске активности изабраних врста биљака у појединачним и комбинованим третманима на НСТ-116 и SW480 хелијама, укључујући и механизме редокс зависне модулације процеса апоптозе и иРНК експресију ензима укључених у метаболизам антитуморских супстанци.

Специфични циљеви истраживања:

- Добијање биљних екстраката из врста *T. chamaedrys*, *A. flavum*, *G. punctata*, *L. vulgare* и *C. erythrea* уз коришћење органских растварача различите поларности (метанол, етилацетат и ацетон).
- Одређивање квантитативног и квалитативног састава фенолних једињења и флавоноида, као потенцијалнио активних компоненти.
- *In vitro* испитивања биолошких ефеката и молекуларних механизма деловања екстраката биљака и новосинтетисаног Pd(II) комплекса (Паладијум(II) комплекс са лигандом 3-[(2-хидроксибензилиден) амино]-2-тиоксоимидазо лидин-4-он) у појединачним и комбинованим третманима, као и њиховог синергистичког ефекта на изабраним модел системима [хумане хелије карцинома колона (НСТ-116 и SW480 хелијске линије) и здраве хелије (фибробласти коже)]: Испитивање цитотоксичних ефеката на НСТ-116, SW480 хелијским линијама и фибробластима коже; Испитивање типа хелијске смрти и молекуларних механизма апоптозе, активације унутрашњег и

спољашњег апоптотског сигналног пута (праћењем активности каспаза укључених у процес апоптозе (каспазе 8 и 9), као и протеинске експресије Fas рецептора на мембрани ћелија) у појединачним и комбинованим третманима; Испитивање ефеката третмана на редокс статус ћелија, праћењем одређених параметара оксидационо-антиоксидационог система, као и њихова корелација са цитотоксичним и проапоптотским ефектима (одређивање концентрације супероксид анјон радикала ( $O_2^{\cdot-}$ ), концентрације нитрита ( $NO_2^-$ ), протеинске експресије iNOS, концентрације неензимске компоненте антиоксидационог заштитног система - редуковани глутатион (GSH)); Испитивање ефеката третмана на иРНК експресију *CYP1A1*, *GSTP1* и *MRP2* гена, чији су протеински производи укључени у метаболизам ксенобиотика и лекова и појаву резистенције малигнућ ћелија на терапију антитуморским супстанцама.

Поглавље **Материјал и методе истраживања** садржи основне податке локалитета, узорковања, процедуре припреме и обраде биљног материјала за лабораторијска истраживања, као и детаљно објашњене ћелијско-молекуларне анализе спроведене током експерименталног дела истраживања.

Поглавље **Резултати истраживања** садржи табеларно, графички и у виду приложених слика приказане резултате истраживања. Резултати истраживања обухватају одређивање концентрације, као и калитативну анализу фенолних једињења и флавоноида, као потенцијално активних компоненти присутних у одабраним врстама биљака.

Друго поглавље Резултата обухвата испитивање биолошких ефеката изабраних врста биљака у појединачним и комбинованим третманима са новосинтетисаним Pd(II) комплексом. Резултати истраживања показују да екстракти испитиваних врста биљака делују цитотоксично на НСТ-116 и SW480 ћелијама, а интензитет цитотоксичности зависи од врсте биљке и коришћеног растварача у екстракционој процедури. Међу испитиваним врстама екстраката, метанолни и ацетонски екстракт показују подједнако добру цитотоксичну активност, док етилацетатни екстракт показује најслабију активност, што је у корелацији са садржајем укупних фенола и флавоноида у екстрактима. Постигнути цитотоксични ефекти биљних екстраката на малигнућ ћелијама, без ефеката на здравим фибробластима коже, указују на антитуморска својства испитиваних биљака. Цитотоксични ефекти испитиваних врста биљака последица су индуковане апоптозе, као доминантно присутног типа ћелијске смрти, активирањем компоненти спољашњег (рецепторима посредованог) и унутрашњег (митохондрија зависног) апоптотског сигналног пута. У НСТ-116 ћелијама, улога митохондрија је кључна у извршењу процеса апоптозе, док је у SW480 ћелијама доминантније активиран спољашњи апоптотски пут. Третмани биљним екстрактима изазивају дисбаланс редокс статуса, као један од могућих узрока проапоптотског деловања биљака и показују јасну молекуларну модулацију процеса апоптозе.

Pd(II) комплекс изазива добру цитотоксичност на ћелијама колоректалног карцинома, али и високе проценте некрозе и цитотоксичне ефекте на здравим фибробластима коже. Pd(II) комплекс изазива оксидациони стрес у ћелијама карцинома колона, повећањем концентрација  $O_2^{\cdot-}$ , NO и смањењем нивоа GSH. Оштећења ћелија изазвана оксидационим стресом су могућ узрок некротске активности Pd(II) комплекса.

Комбиновани третмани екстраката биљака *A. flavum* и *G. punctata* и Pd(II) комплекса смањују токсичност Pd(II) комплекса на здравим ћелијама, а супротно повећавају цитотоксичност на малигнућ ћелијама, при чему долази до међусобних синергистичких ефеката. У комбинованим

третманима смањује се проценат некрозе у односу на појединачни третман Pd(II) комплексом, а повећава се цитотоксичност, изазвана апоптозом.

Резултати испитивања иРНК експресије углавном показују инхибиторне ефекте биљних екстраката на иРНК експресију *CYP1A1*, *GSTP1* и *MRP2* гена, чији су протеински производи укључени у метаболизам ксенобиотика и лекова и појаву резистенције малигнућ хелија на терапију антитуморским супстанцама. Pd(II) комплекс не доводи до значајних промена или повећава иРНК експресију испитиваних гена, што указује на метаболизам Pd(II) комплекса овим ензимима. Експресија иРНК испитиваних гена чији су протеински производи укључени у метаболизам антитуморских супстанци генерално је смањена у комбинованим третманима у односу на појединачне у обе хелијске линије, што резултира повећаном цитотоксичношћу Pd(II) комплекса, због његовог слабијег метаболизма и транспорта кроз мембрану у присуству биљака које инхибирају експресију ових протеина.

У поглављу **Дискусија** истакнути су оригинални резултати истраживања, њихов значај, као и поређење са досадашњим доступним литературним подацима и актуелним сазнањима из ове области.

У **Закључку** су наглашени најбитнији резултати истраживања, истакнут је њихов значај и могућност примене добијених резултата.

У **Литератури** је дат списак референци које су цитиране у тексту докторске дисертације.

Поглавље **Прилози** садржи детаљне податке и резултате везане за синтезу Pd(II) комплекса, квалитативни састав фенолних једињења присутних у биљкама (одређиван HPLC методом) и табеларно и гарфички представљену допуну резултатима истраживања синергистичких ефеката између испитиваних врста биљака и Pd(II) комплекса.

### **Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелности у одређеној научној области**

Докторска дисертација кандидата Милене Ђурчић под насловом “Молекуларни механизми апоптозе у хелијама карцинома колона након *in vitro* третмана екстрактима лековитих биљака” је из области Биологије, односно ужих научних области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија. Предмет истраживања докторске дисертације је испитивање антитуморске активности, проапоптотских ефеката и молекуларних механизма апоптозе, редокс зависне модулације процеса апоптозе и утицај на генску експресију ензима укључених у метаболизам антиканцерогених супстанци у хелијским линијама колоректалног карцинома, третираним екстрактима биљака из флоре Србије - *Teucrium chamaedrys* L., *Allium flavum* L., *Gentiana punctata* L., *Ligustrum vulgare* L. и *Centaurium erythraea* Rafn, у појединачним и комбинованим третманима са новосинтетисаним Pd(II) комплексом.

Колоректални карцином представља значајан медицински проблем пошто су учесталост обољевања и смртност од ове болести у сталном порасту. У борби против малигнућ болести неопходна су истраживања нових медицинских агенаса и боље разумевање њихове улоге пре свега у превенцији, као и у третману ове болести. У те сврхе, супстанце природног порекла које имају способност да интерагују са сигналним путевима укљученим у хелијске функције и модификују сигналне путеве током процеса канцерогенезе, успоравајући или блокирајући овај процес,

поседују бројне предности у односу на синтетске. Велики број биљака коришћених у народној медицини нашао је примену у фармацеутској индустрији, клиничкој пракси, као и у експерименталним истраживањима у циљу проналаска потенцијалних антитуморских једињења присутних у биљкама. Испитиване биљне врсте (*T. chamaedrys*, *A. flavum*, *G. punctata*, *L. vulgare* и *S. erythrea*) су лековите и ароматичне биљке, богате етарским уљима, фенолним киселинама, флавоноидима и другим активним супстанцама које испољавају широк спектар биолошких ефеката. Користе се у народној медицини и фитотерапији за лечење дигестивних проблема. На основу употребе и значаја ових, недовољно испитаних биљака, квантитативно-квалитативна анализа активних супстанци, испитивање цитотоксичних и проапоптотских ефеката на ћелијама колоректалног карцинома пружају допринос сазнањима у молекуларној и ћелијској биологији, са могућом применом у фитотерапији, медицини, индустрији хране и другим областима, дајући одговоре на многа актуелна питања у неколико научних и стручних дисциплина.

Посебно су актуелна истраживања ефеката потенцијалних антитуморских лекова на изазивање апоптозе, као једне од водећих стратегија у терапији малигнух болести. Индукција апоптозе цитотоксичним агенсима представља повољан прогностички параметар у лечењу малигнух болести и истраживања ове проблематике су од изузетног значаја за разумевање молекуларно-биолошких процеса који леже у основи процеса апоптозе. Резултати докторске дисертације доприносе испитивањима сигналних путева апоптозе, изазване третманима изабраних врста лековитих биљака, што је битно са становишта дизајна антитуморских лекова, као и регулаторних механизма процеса апоптозе.

Поред тога, појава резистенције туморских ћелија на комерцијалне цитостатике представља велики проблем, што иницира бројна истраживања потенцијално нових антитуморских супстанци или коришћење комбинованих третмана цитостатика са активним супстанцама природног порекла. Могућност биљних екстракта да појачавају активност цитостатика или смање његове штетне ефекте на организам сматра се једним од алтернативних начина у решавању појаве или смањења резистенције туморских ћелија. Резултати докторске дисертације указују на позитивне интеракције и синергистичке ефекте екстракта биљке *A. flavum* и *G. punctata* и Pd(II) комплекса, што у даљим експерименталним испитивањима може имати значајан клинички допринос.

На основу увида у научне резултате који су приказани у оквиру докторске дисертације кандидата Милене Ђурчић, Комисија је закључила да ова докторска дисертација представља значајан научни допринос у области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија.

### **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 кандидата Милене Ђурчић под насловом “Молекуларни механизми апоптозе у ћелијама карцинома колоне након *in vitro* третмана екстрактима лековитих биљака” резултат оригиналног научног рада кандидата, што је потврђено и публикованим радовима у међународном часописима са SCI листе и саопштењима на међународним и националним скуповима. Цитотоксични и проапоптотски ефекти испитиваних врста биљака на

изабраним модел системима - ћелијским линијама колоректалног карцинома су по први пут истраживани.

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

Кандидат Милена Ђурчић, дипломирани биолог, бави се научно-истраживачким радом у области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија. Резултати научно-истраживачког рада кандидата објављени су у виду 11 научних радова публикованих у међународним научним часописима са SCI листе, 2 рада у националним научним часописима, 9 радова саопштених на међународним научним скуповима штампаних у изводу, 1 рад на националном научном скупу штампан у целини и 10 радова саопштених на националним скуповима штампаних у изводу, што укупно чини 33 библиографске јединице. Кандидат Милена Ђурчић учествовала је у реализацији научно-истраживачких пројеката: „Таксономска, биохемијска и молекуларна истраживања гљива и биолошки активних супстанци“ (Евиденциони број: 143041), као стипендиста Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије и у реализацији међународног ФП7 пројекта (*Centre for preclinical testing of active substances* - CPCTAS, GA206809). Тренутно је запослена као истраживач-сарадник на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије „Преклиничка испитивања биоактивних супстанци - ПИБАС“ (Евиденциони број: ИИИ41010), у Институту за биологију и екологију, Природно-математичког факултета у Крагујевцу.

### Радови објављени у међународним научним часописима:

1. Stanković M, **Ćurčić M**, Žižić J, Topuzović M, Solujić S, Marković S. *Teucrium* plant species as natural sources of novel anticancer compounds: antiproliferative, proapoptotic and antioxidant properties. *International Journal of Molecular Science*, 2011, 12: 4190-4205. ISSN: 1422-0067. IF<sub>2011</sub>: 2.598, M<sub>21</sub>.
2. Mitrović T, Stamenković S, Cvetković V, Tošić S, Stanković M, Radojević I, Stefanović O, Čomić Lj, Đačić D, **Ćurčić M**, Marković M. Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of five lichen species. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12(8): 5428-5448. ISSN: 1422-0067. IF<sub>2011</sub>: 2.598, M<sub>21</sub>.
3. **Ćurčić M**, Stanković M, Mrkalić E, Matović Z, Banković D, Cvetković D, Đačić D, Marković S. Antiproliferative and proapoptotic activities of methanolic extracts from *Ligustrum vulgare* L. as an individual treatment and in combination with palladium complex. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13: 2521-2534. ISSN: 1422-0067. IF<sub>2011</sub>: 2.598, M<sub>21</sub>. IF<sub>2012</sub>: 2.464, M<sub>22</sub>.
4. **Ćurčić M**, Stanković M, Radojević I, Stefanović O, Čomić Lj, Topuzović M, Đačić D, Marković S. Biological effects, total phenolic content and flavonoid concentrations of fragrant yellow onion (*Allium flavum* L.). *Medicinal Chemistry*, 2012, 8(1): 46-51. ISSN: 1573-4064. IF<sub>2010</sub>: 1.603, M<sub>22</sub>; IF<sub>2012</sub>: 1.373 M<sub>23</sub>.
5. Marković SD, Žižić JB, Đačić DS, Obradović AD, **Ćurčić MG**, Cvetković DM, Đorđević NZ, Ognjanović BI, Štajn AŠ. Alteration of oxidative stress parameters in red blood cells of rats after chronic *in vitro* treatment with cisplatin and selenium. *Archives of Biological Science*, 2011, 63(4): 991-999. ISSN: 0354-4664. IF<sub>2011</sub>: 0.360, M<sub>23</sub>.
6. Stanković M, Radojević I, **Ćurčić M**, Vasić S, Topuzović M, Čomić Lj, Marković S. Evaluation of biological activities of goldmoss stonecrop (*Sedum acre* L.). *Turkish Journal of Biology*, 2012, 36: 580-588. ISSN: 1300-0152. IF<sub>2012</sub>: 0.914, M<sub>23</sub>.
7. Šmit B, Pavlović R, Radosavljević-Mihajlović A, Došen A, **Ćurčić M**, Šeklić D, Živanović M. Synthesis, characterization and cytotoxicity of palladium(II) complex of 3-[(2-hydroxy-benzylidene)-

amino]-2-thioxo-imidazolidin-4-one. *Journal of Serbian Chemical Society*, 2013, 78(2): 217-227. ISSN: 0352-5139. IF<sub>2013</sub>: 0.889, M<sub>23</sub>.

8. Košarić J, Cvetković D, Živanović M, **Ćurčić M**, Šeklić D, Bugarčić Z, Marković S. Antioxidative and antiproliferative evaluation of 2-(phenylselenomethyl)tetrahydrofuran and 2-(phenylselenomethyl)tetrahydropyran. *Journal of BUON*, 2014, 19(1): 283-290. ISSN: 1107-0625. IF<sub>2013</sub>: 0.706, M<sub>23</sub>.
9. Stojković D, Jevtić V, Radić G, Đačić D, **Ćurčić M**, Marković S, Đinović V, Petrović V, Trifunović S. Stereospecific ligands and their complexes. Part XII. Synthesis, characterization and in vitro antiproliferative activity of platinum(IV) complexes with some O,O'-dialkyl esters of (S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-propanoic acid against colon cancer (HCT-116) and breast cancer (MDA-MB-231) cell lines. *Journal of Molecular Structure*, 2014, 1062: 21-28. ISSN: 0022-2860. IF<sub>2013</sub>: 1.599, M<sub>23</sub>.
10. Marković S, Đorđević N, **Ćurčić M**, Štajn A, Spasić M. Biotransformation and nitroglycerin-induced effects on antioxidative defense system in rat erythrocytes and reticulocytes. *General Physiology and Biophysics*, 2014, 33(4) (In press). ISSN: 0231-5882. IF<sub>2013</sub>: 0.875, M<sub>23</sub>.
11. Filipović N, Djukić T, Radović M, Cvetković D, **Ćurčić M**, Marković S, Peulić A, Jeremić B. Electromagnetic field investigation on different cancer cell lines. *Cancer Cell International*, 2014 (In press). ISSN: 1475-2867. IF<sub>2013</sub>: 1.989, M<sub>23</sub>.

#### **Радови објављени у страном и домаћем националном часопису:**

12. Grbović F, Stanković SM, **Ćurčić M**, Đorđević N, Šeklić D, Topuzović M, Marković S. *In vitro* cytotoxic activity of *Origanum vulgare* L. on HCT-116 and MDA-MB-231 cell lines. *Plants*, 2013, 2: 371-378. ISSN: 2223-7747, M<sub>53</sub>.
13. Cvjetković V, Đokić M, Arsić B, **Ćurčić M**. The ontology supported intelligent system for experiment search in the scientific research center. *Kragujevac Journal of Science*, 2014, 36: 95-110. ISSN: 1450-9636, M<sub>53</sub>.

#### **Саопштења на међународним научним скуповима штампана у изводу – кат. М34:**

14. Stanković M, **Ćurčić M**, Đačić D, Topuzović M, Marković SD. Phenolic content in vitro antiproliferative and apoptotic activity of *Teucrium* species from Serbian flora on HCT-116 cell line. Scientific Conference with International Participation “Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research”, Kragujevac, 2011, p21. ISBN: 978-86-7760-064-8.
15. Stanković M, **Ćurčić M**, Đačić D, Žižić J, Topuzović M, Marković S. Free-radical scavenging capacity and total phenolic content of Fragrant yellow onion (*Allium flavum* L.). Scientific Conference with International Participation “Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research”, Kragujevac, 2011, p62. ISBN: 978-86-7760-064-8.
16. **Ćurčić M**, Stanković M, Đačić D, Topuzović M, Marković S. Antioxidant, antiproliferative and apoptotic activity of different extracts of leaves and seed cones from european yew (*Taxus baccata* L.). Scientific Conference with International Participation “Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research”, Kragujevac, 2011, p63. ISBN: 978-86-7760-064-8.
17. Đačić D, Cvetković V, Stanković M, **Ćurčić M**, Mitrović T, Stamenković S, Marković S. *In vitro* antiproliferative activity of five lichens species on HCT-116 human colon cell line. Scientific Conference with International Participation “Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research”, Kragujevac, 2011, p64. ISBN: 978-86-7760-064-8.
18. Đačić D, Kosanić M, **Ćurčić M**, Ranković B, Marković S. Cytotoxic activities of *Umbilicaria crustulosa*, *Parmeliopsis ambigua*, *Umbilicaria polyphylla*, *Lecanora muralis* and *Parmelia saxatilis* methanol extracts on human colon cancer cell line. Scientific Conference with International Participation “Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research”, Kragujevac, 2011, p65. ISBN: 978-86-7760-064-8.
19. Žižić J, **Ćurčić M**, Đačić D, Obradović A, Stanković M, Mitrović T, Kosanić M, Ranković B, Marković S. Evaluation of redox status of HCT-116 cell line treated with various lichen and plant extracts.

Scientific Conference with International Participation "Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research", Kragujevac, 2011, p66. ISBN: 978-86-7760-064-8.

20. Žižić J, **Ćurčić M**, Obradović A, Mrkalić E, Matović Z, Ćendić M, Djurdjević P, Živić D, Marković S. Evaluation of antiproliferative activity of new palladium complex and mechanism of cell death on HCT-116 and MDA-MB-231 cell lines. Scientific Conference with International Participation "Preclinical Testing of Active Substances and Cancer Research", Kragujevac, 2011, p13. ISBN: 978-86-7760-064-8.
21. Živanović M, Cvetković D, Košarić J, **Ćurčić M**, Šeklić D, Bugarčić Z, Marković S. Antioxidative effects of novel selenium compounds. FEBS JOURNAL, 2012, 279: 197-197. ISBN: 1742-4658.
22. **Ćurčić M**, Stanković M, Šeklić D, Živanović M, Cvetković D, Marković S. Total phenolic content and in vitro antioxidant/prooxidant properties of leaves and fruits from *Ligustrum vulgare* L. FEBS JOURNAL, 2012, 279: 216-216. ISBN: 1742-4658.

**Саопштења на националним научним скуповима штампана у целини– кат. М63:**

23. **Ćurčić M**, Stanković M, Đačić D, Topuzović M, Marković S. Antiproliferativna aktivnost metanolnog ekstrakta biljke *Teucrium scordium* L. na HCT-116 ćelijskoj liniji. XI savetovanje o biotehnologiji sa međunarodnim učešćem, 2011. Zbornik radova, 497-501. ISBN: 978-86-87611-15-3.

**Саопштења на националним научним скуповима штампана у изводу– кат. М64:**

24. Đačić D, **Ćurčić M**, Žižić J, Obradović A, Đorđević N, Marković S. Cell biology techniques applied in pre-clinical testing of active substances on cell culture. The second workshop pre-clinical testing of Active Substances on cancer and various model systems, Kragujevac, October 2009., Supplementary material P.45.
25. **Ćurčić M**, Stanković M, Mrkalić E, Matović Z, Đačić D, Cvetković D, Živanović M, Marković S. Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti metanolnih ekstrakata biljke *Ligustrum vulgare* L. na HCT-116 ćelijskoj liniji u zavisnosti od vremena izlaganja i u kotretmanu sa kompleksom paladijuma. Kongres "Mitohondrije i slobodni radikali", Beograd, 2011, knjiga sažetaka, strana 72. ISBN: 978-86-912893-1-7.
26. Cvetković D, **Ćurčić M**, Đačić D, Stanković M, Marković S. Ispitivanje antiproliferativnih i antioksidacionih svojstava metanolnih ekstrakata dobijenih iz listova i plodova biljke *Ligustrum vulgare* L. na HCT-116 ćelijskoj liniji. Kongres "Mitohondrije i slobodni radikali", Beograd, 2011, knjiga sažetaka, strana 48. ISBN: 978-86-912893-1-7.
27. Đačić D, Stanković M, Glođović V, Radić G, Trifunović S, **Ćurčić M**, Cvetković D, Živanović M, Marković S. Sinergistička antiproliferativna aktivnost gjive *Phellinus luteus* i kompleksa platine(IV) [Pt(dp-(S,S)-eddp)] na ćelijskoj liniji humanog kolon kancera (HCT-116). Kongres "Mitohondrije i slobodni radikali", Beograd, 2011, knjiga sažetaka, strana 37. ISBN: 978-86-912893-1-7.
28. **Ćurčić M**, Stanković M, Cvetković D, Živanović M, Marković S. Prooksidacioni efekat i citotoksičnost ekstrakata biljke *Ligustrum vulgare* L. na ćelije karcinoma kolona. Kongres "Život sa slobodnim radikalima", Niš, 2013. godine, knjiga sažetaka, strana 71. ISBN: 978-86-912893-2-4.
29. **Ćurčić M**, Stanković M, Cvetković D, Šeklić D, Marković S. Efekti ekstrakata biljke *Teucrium chamaedrys* L. na apoptotski signalni put i redoks status ćelija karcinoma kolona. Kongres "Život sa slobodnim radikalima", Niš, 2013., knjiga sažetaka, strana 64. ISBN: 978-86-912893-2-4.
30. Šeklić D, Mitrović T, Stamenković S, Cvetković V, Radenković J, **Ćurčić M**, Živanović M, Cvetković D, Marković S. Citotoksični i prooksidacioni efekti efekti ekstrakata lišajeva (*Pseudoevernia furfuracea* i *Platismatia glauca*) na ćelijskim linijama humanog kolon kancera (HCT-116 i SW-480). Kongres "Život sa slobodnim radikalima", Niš, 2013., knjiga sažetaka, strana 53. ISBN: 978-86-912893-2-4.
31. Šeklić D, Stanković M, Topuzović M, **Ćurčić M**, Živanović M, Cvetković D, Marković S. Prooksidativni i antimigratorni efekti ekstrakata medicinski značajnih glijiva u tretmanu ćelijskih linija humanog kolon kancera. Kongres "Život sa slobodnim radikalima", Niš, 2013., knjiga sažetaka, strana 54. ISBN: 978-86-912893-2-4.

32. Živanović M, Košarić J, Šeklić D, Cvetković D, Čurčić M, Sukdolak S, Marković S. Citotoksični i antioksidativni-prooksidativni efekti derivata kumarina na ćelijskoj liniji humanog kolon kancера HCT-116. Kongres "Tivot sa slobodnim radikalima", Niš, 2013., knjiga sažetaka, strana 68. ISBN: 978-86-912893-2-4.
33. Baskić D, Popović S, Stanković M, Todorović D, Čurčić M, Petrović M. Antiproliferativni efekat ekstrakata biljaka *Ligustrum vulgare*, *Teucrium pollium* i gljive *Phelinus linteus* na rast A549 ćelija karcinoma pluća u kulturi. Oktobarski zdravstveni dani, Kragujevac, 2013, strana 36-37. ISBN: 0350-1221.

#### **Радови у процесу рецензије:**

34. Čurčić M, Stanković M, Cvetković D, Topuzović M, Marković S. *Ligustrum vulgare* L.: *In vitro* free radical scavenging activity and pro - oxidant properties in human colon cancer cell lines. *Turkish Journal of Biology*. ISSN: 1300-0152.
35. Čurčić M, Stanković M, Cvetković D, Maksimović V, Šmit B, Pavlović R, Marković S. The molecular mechanisms of apoptosis induced by *Allium flavum* L. and synergistic effects with new-synthesized Pd(II) complex on colon cancer cells. *Journal of Food Biochemistry*. ISSN: 0145-8884.

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

На основу прегледаног рукописа докторске дисертације Комисија је утврдила да оквирни садржај, 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 “Молекуларни механизми апоптозе у ћелијама карцинома колона након *in vitro* третмана екстрактима лековитих биљака”

#### **Научни резултати докторске дисертације**

У оквиру истраживачког рада везаног за докторску дисертацију, кандидат Милена Ђурчић је публиковала 4 рада у међународним часописима са SCI листе (референце под редним бројевима 1, 3, 4 и 7 (напомене: (а) у публикацијама интердисциплинарних истраживања [референце 4 и 7] резултати дисертације се односе на екстракцију биљака, одређивање концентрација фенола и флавоноида или цитотоксичну активност; (б) још два рада су у процесу рецензије у часописима са SCI листе [референце 34 и 35]), 3 рада саопштена на међународним научним скуповима штампана у изводу (референце под редним бројевима 14, 15 и 22) и 4 рада саопштена на националним научним скуповима штампана у изводу (референце под редним бројевима 25, 26, 28 и 29), што укупно чини 11 публикованих библиографских јединица везаних за тему докторске дисертације и две у процесу рецензије.

#### **Применљивост и корисност резултата у теорији и пракси**

Обзиром на актуелност теме, резултати докторске дисертације имају велики значај у испитивању нових анти туморских лекова пореклом из природних извора, повећавају значај коришћења биљака као извора медикамената, доприносе развоју адекватне терапије и тиме дају допринос дисертације како у научном, тако и у практичном смислу. Такође, резултати докторске дисертације имају значајан допринос у испитивању хемијског састава, научној потврди лековитости и биолошке активности биљака са простора Србије. Обзиром на висок садржај фенолних једињења испитиване биљке карактерише потенцијална широка примена у неколико

научних области, као и практична примена у фармацији, козметичкој и прехранбеној индустрији. Резултати докторске дисертације јасно указују на антитуморски потенцијал испитиваних врста биљака и могућу примену у биомедицини, као и синергистичке ефекте са новосинтетисаним хемиотерапеутиком сугеришући на могућност примене у новим терапијским процедурама, попут могућности коришћења биљака као додатака хемиотерапији или суплемената исхрани.

### **Начин презентовања резултата научној јавности**

Резултати научно-истраживачког рада кандидата представљени су у оквиру докторске дисертације под насловом “Молекуларни механизми апоптозе у ћелијама карцинома колона након *in vitro* третмана екстрактима лековитих биљака”, као и у виду научних радова публикованих у међународним научним часописима и зборницима са научних скупова.

Добијени резултати у оквиру докторске дисертације у самом тексту су приказани јасно, систематично и прецизно. Текст достављене докторске дисертације обухвата 194 стране, у оквиру 8 поглавља и укључује 34 слике, 45 табела, 27 графика и литературу коју чине 436 библиографских јединица. Дисертација садржи Увод (1-41 страна), Циљ (42-43 страна), Материјал и методе истраживања (44-60 страна), Резултате истраживања (61-112 страна), Дискусију (113-137 страна), Закључке (138-141 страна), Литературу (142-174 страна), Прилоге (175-194 страна). Саставни део докторске дисертације чине и Извод на српском и енглеском језику, Листа скраћеница, као и Биографија са библиографским подацима кандидата.

Резултати истраживања добијени приликом израде приложене докторске дисертације публиковани су у виду 11 библиографских јединица, коју чине 4 рада у међународним научним часописима са SCI листе, 3 саопштења на међународним научним скуповима штампана у изводу и 4 рада саопштена на националним научним скуповима штампана у изводу.

### **ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ**

На основу прегледаног рукописа и достављеног материјала, Комисија констатује да је докторска дисертација кандидата **Милене Ђурчић**, дипломираног биолога, под насловом “Молекуларни механизми апоптозе у ћелијама карцинома колона након *in vitro* третмана екстрактима лековитих биљака” проистекла из оригиналног научноистраживачког рада и да је заснована на савременим научним сазнањима са фундаменталним теоријским значајем у науци и примени у пракси. Због тога ова докторска дисертација поседује вредност, оригиналност, актуелност и научну оправданост у циљу разјашњења проблематике која је последњих година интензивно истраживана, али недовољно проучена.

Део резултата истраживања у оквиру докторске дисертације публикован је у оквиру 4 научна рада у међународним научним часописима са SCI листе, 3 рада саопштена на међународним научним скуповима штампана у изводу, и 4 рада саопштена на националним скуповима штампана у изводу, што укупно чини 11 библиографских јединица.

На основу изнетих чињеница Комисија предлаже Наставно-научном већу Природно-математичког факултета у Крагујевцу да прихвати докторску дисертацију кандидата **Милене Ђурчић**, дипломираног биолога под насловом “Молекуларни механизми апоптозе у ћелијама карцинома колоне након *in vitro* третмана екстрактима лековитих биљака” и спроведе даљу процедуру у циљу одобравања докторске дисертације.

У Крагујевцу,  
31.07.2014.

#### КОМИСИЈА

Др **Андраш Штајн**, редовни професор,  
ПМФ Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област  
Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија;

Др **Марина Топузовић**, ванредни професор,  
ПМФ Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област  
Морфологија, систематика и филогенија биљака;

Др **Снежана Марковић**, доцент,  
ПМФ Универзитета у Крагујевцу, ужа научна  
област Физиологија животиња и човека и  
молекуларна биологија – ментор;

Др **Милица Пешић**, виши научни сарадник,  
Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“,  
Универзитет у Београду, научна област Биологија,  
ужа научна област Молекуларна неуробиологија и  
Молекуларна онкологија.