

Већа катедре ИБЕ  
Сагласно  
18. 05. 2016.  
Оливера Милошевић

## НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА

### И ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ

### УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ

ПРИЈЕМО: 23. 05. 2016			
Оп. јед.	Број	ПРИЛОЖЕНОСТ	
04	550/0	-	-

Одлуком Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу бр. IV-01-339/8, од 11. 05. 2016. године именовани смо за чланове Комисије за писање Извештаја о научној заснованости теме докторске дисертације и испуњености услова кандидата **Марине Радовић** под називом “Испитивање генотоксичних и цитотоксичних ефеката врста *Artemisia vulgaris* и *Artemisia alba* на хумане лимфоците *in vitro* и SW-480 хелијску линију карцинома колона“ у саставу:

1. **Др Оливера Милошевић-Ђорђевић**, редовни професор уже научне области Генетика и еволуција, Природно-математички факултет Универзитета у Крагујевцу
2. **Др Дарко Грујичић**, доцент уже научне области Генетика и еволуција, Природно-математички факултет Универзитета у Крагујевцу
3. **Др Снежана Марковић**, доцент уже научне области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија, Природно-математички факултет Универзитета у Крагујевцу
4. **Др Гордана Јоксић**, научни саветник, Институт за нуклеарне науке “Винча”, Београд, ужа научна област Генетичка токсикологија

У складу са одредбама Закона о високом образовању, Правилника Универзитета за израду докторске дисертације и Статута Природно-математичког факултета у Крагујевцу и на основу увида у приложену документацију, подносимо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета следећи:

## ИЗВЕШТАЈ

### 1. Биографски подаци

Кандидат **Марина Радовић** рођена је 11.03.1988. године у Аранђеловцу, општина Аранђеловац, Република Србија.

Основну и средњу школу Гимназију у Аранђеловцу завршила је са одличним успехом. Школске 2007/08. године уписала је Основне академске студије Биологије на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу, које је завршила 2010. године са просечном оценом 8,52 и тиме стекла академско звање Биолог. Исте, 2010. године, уписала је Дипломске академске студије Биологије-мастер на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу, које је успешно окончала 2012.

године са просечном оценом током студија 9,50 и оценом 10 на завршном раду и стекла академско звање Дипломирани биолог – мастер.

Докторске академске студије Биологије уписала је школске 2012/2013. године на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу. Од маја 2013. године ангажована је у својству истраживача приправника на пројекту финансираном од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије (2011-2016. године) под називом „Преклиничка испитивања биоактивних супстанци“ (ИИИ41010) на Институту за биологију и екологију, Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу. Положила је све предмете предвиђене студијским програмом докторских студија Биологије и савладала технике из цитогенетике и молекуларне биологије које ће бити примењене у експерименталном делу докторске дисертације.

У току школске 2013/2014. и 2014/2015. године Марина Радовић је ангажована у извођењу вежби на предмету Цитогенетика на Основним академским студијама Биологије на Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета Крагујевцу.

## **2. Наслов, предмет и хипотезе докторске дисертације**

Предложени наслов докторске дисертације је: **“Испитивање генотоксичних и цитотоксичних ефеката врста *Artemisia vulgaris* и *Artemisia alba* на хумане лимфоците *in vitro* и SW-480 ћелијску линију карцинома колона“**

Предложена тема докторске дисертације је из научне области Биологија, уже научне области Генетика.

Планираним истраживањем у оквиру предложене теме за докторску дисертацију кандидат Марина Радовић би обавила експерименталну студију чији је примарни предмет испитивање генотоксичног потенцијала различитих екстраката (метанолског, ацетонског и воденог) биљних врста *Artemisia vulgaris* L. и *Artemisia alba* Турга на хумане лимфоците здравих донора *in vitro*, у појединачном и комбинованом третману са познатим цитостатиком митомицином Ц, применом цитокинезис блок микронуклеус (ЦБМН) теста. Такође, предмет истраживања докторске дисертације под наведеним насловом је и утврђивање квалитативног и квантитативног хемијског састава екстраката поменутих биљних врста, утврђивање потенцијалног цитотоксичног дејства различитих екстраката биљних врста, као и одређивање типа ћелијске смрти у ћелијској линији колон кацера (SW-480).

Истраживање би се заснивало на примени: (1) ЦБМН теста на лимфоцитима периферне крви 4 здрава донора, (2) МТТ теста за одређивање цитотоксичног ефекта, (3) Annexin V- FICT теста за одређивање типа ћелијске смрти и процената ћелија које су у апоптози и/или некрози, (4) HPLC методе (High-Pressure Liquid Chromatography) у циљу идентификације биолошки активних супстанци у екстрактима испитиваних врста биљака

и (5) спектрофотометријских метода за квантитативну анализу укупних фенолних једињења и флавоноида у екстрактима.

У оквиру ове студије узимаће се узорак периферне венске крви 4 здрава донора из кубиталне вене на надлактици, која ће бити коришћена за утврђивање генотоксичног потенцијала различитих екстраката (метанолски, ацетонски и водени) биљних врста *Artemisia vulgaris* L. и *Artemisia alba* Turra *in vitro* у појединачном третману, као и утврђивање комутагеног/антимутагеног ефекта применом комбинованог третмана екстракта и познатог цитостатика митомицина Ц. Анализа ће бити спроведена применом ЦБМН есеја као валидног теста за процену генотоксичности хемијских агенаса у хуманим ћелијама. Други део студије обухватаће анализу квалитативног и квантитативног хемијског састава екстраката наведених врста биљака, испитивање цитотоксичних ефеката и механизма апоптозе/некрозе, након *in vitro* појединачних и комбинованих третмана са познатим цитостатиком, где ће се као модел систем користити имортализована ћелијска линија колон канцера (SW480).

### 3. Оцена подобности кандидата

Кандидат Марина Радовић је испунила све обавезе предвиђене наставним планом академских докторских студија ПМФ-а Универзитета у Крагујевцу.

Кандидат се бави научно-истраживачким радом у Лабораторији за генетику и Лабораторији за молекуларну биологију Института за биологију и екологију, ПМФ-а у Крагујевцу. У току свог научноистраживачког рада стекла је теоријска знања из области Генетике и овладала техникама из области Цитогенетике и Молекуларне биологије, које са успехом примењује.

У својству истраживача ангажована је на пројекту који финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја РС: "Преклиничка испитивања биоактивних супстанци" (ПИБАС) - евиденциони број ИИИ41010 (2011-2016).

У току научно – истраживачког рада кандидат Марина Радовић је као коаутор објавила 1 рад у часопису са SCI листе **M23** категорије, као и 2 саопштења на конгресу међународног значаја категорије **M34**.

### Научни радови објављени у међународним часописима (M23)

1. O. Milošević-Djordjević, D. Grujičić, M. Radović, N. Vuković, J. Žižić, S. Marković: *In vitro* chemoprotective and anticancer activities of propolis in human lymphocytes and breast cancer cell line. *Arch Biol Sci*, 2015, 65, 571-581. **IF<sub>2014</sub> = 0,747**

## Саопштења на међународним научним скуповима (M34)

1. **M. Radović**, O. Milošević-Djordjević, M. Stanković, D. Grujičić: Evaluation of genotoxic potentials of *Teucrium chamaedrys* and *Teucrium montanum* species in cultured human peripheral blood lymphocytes. V Congress of Serbian Genetic Society, Kladovo, 2014, Book of Abstract, pp 148.
2. **M. Radović**, D. Grujičić, S. Simonović-Živančević, O. Vrndić, O. Milošević-Djordjević: Null polymorphisms of GSTT1 and GSTM1 genes are associated with a higher risk for differentiated thyroid cancer. V Congress of Serbian Genetic Society, Kladovo, 2014, Book of Abstract, pp 117.

## 4. Преглед стања у подручју истраживања

Лековита својства биљака позната су од најранијих времена људске цивилизације, од тада па све до данас биљке су се употребљавале као храна, лекови и конзерванси. Последње две деценије дошло је до огромног интересовања и анализа различитих биљака и биљних екстраката за потенцијалне медицинске сврхе. Велики број биљних врста су одличан извор биолошки активних једињења чији је утицај на људско здравље или генетички материјал углавном непознат. Због честе употребе биљних екстраката у народној медицини у лечењу различитих болести од изузетне важности је да се испита генотоксичност у циљу процене њиховог потенцијалног мутагеног или генотоксичног ефекта. Генотоксичне компоненте могу да интерагују са ДНК молекулом доводећи до генетичких оштећења, па је од велике важности укључивање генотоксичног приступа у токсиколошку евалуацију биљних екстраката. Са друге стране, појава карцинома дебелог црева је у сталном порасту и заузима водеће место по смртности и броју оболелих. Једну од стратегија лечења карцинома представљају испитивања биолошки активних једињења, као потенцијалних лекова који индукују апоптозу. Показано је да делотворност фитотерапије почива на синергизму различитих компоненти које улазе у састав биљних екстраката, али нема довољно научних доказа о природи ових молекула и механизмима њиховог дејства.

## 5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

Род *Artemisia* L. (Asteraceae, Compositae: Anthemideae) је један од најбројнијих родова фамилије Asteraceae. Обухвата између 350 и 500 широко распрострањених и ендемичних врста. У флори Европе заступљено је 60 врста овог рода, док је у флори Србије присутно девет врста.

Карактерише их значајан квантитативно-квалитативни састав секундарних метаболита који испољавају широки спектар биолошких ефеката и доприносе њиховој практичној примени, због чега су познате у народној медицини, као и фармацеутској и прехрамбеној индустрији. Познате лековите врсте рода *Artemisia* (заједнички народни назив – "пелин" или "пелен"), као што су *Artemisia annua* (слатки пелин), *A. absinthium* (бели пелин), *A. dracuncululus* (естрагон) и друге, примењују се у терапији дигестивних обољења и као антихелминтици и антималарици, због чега су значајно заступљен објекат у научним и примењеним областима истраживања. Врсте *Artemisia vulgaris* L. (комоника, црни пелин) и *Artemisia alba* Turra (рудински пелин) које су предмет истраживања докторске дисертације, користе се у традиционалном лечењу дигестивних и респираторних обољења, лековите материје испољавају ефекте као што су стимулација варења и побољшање апетита, као и противупалне ефекте. Поред наведене терапијске примене, користе се за добијање горких алкохолних напитака.

На основу употребе и значаја ових недовољно испитаних биљака, за које не постоји довољно података о упоредној анализи биолошких ефеката, утврђивање генотоксичног потенцијала, квантитативно-квалитативна анализа њихових активних супстанци, као и испитивање цитотоксичних и проапоптотских ефеката на линији туморских ћелија колоне, представља значајан допринос сазнањима у генетици, молекуларној и ћелијској биологији, као и фармакологији. Сазнања до којих би се дошло након израде ове докторске дисертације наша би примену у фитофармацији, медицини, индустрији хране и другим областима, дајући одговоре на многа актуелна питања у неколико научних и стручних дисциплина.

Циљеви истраживања су:

- 1) испитивање генотоксичног потенцијала, као и потенцијалних комутагених/антимутагених ефеката у митомицином Ц индукованим лимфоцитима, узимајући у обзир недовољну истраженост ефеката биљних врста *Artemisia vulgaris* L. и *Artemisia alba* Turra на наследни материјал хумане популације.
- 2) Испитивање антигуморског потенцијала екстраката наведених биљака на SW480 линији ћелија колоректалног карцинома.
- 3) Испитивање потенцијалних синергистичких ефеката екстраката биљака *Artemisia vulgaris* L. и *Artemisia alba* Turra и цитостатика митомицина Ц у ћелијама колоректалног карцинома SW480
- 4) Испитивање типа ћелијске смрти изабраних биљака у појединачним и комбинованим третманима на SW480 ћелијама.
- 5) Одређивање квантитативног и квалитативног састава фенолних једињења и флавоноида, као потенцијалних активних компоненти.
- 6) Одређивање укупних фенола и флавоноида у тестираним биљним екстрактима
- 7) Одређивање корелације између фреквенце МН и укупних фенола и флавоноида
- 8) Одређивање корелације између МН фреквенце и апоптозе/некрозе у лимфоцитима здравих донора

## 6. Веза са досадашњим истраживањима

Имајући у виду да су бројна истраживања у генетичкој токсикологији показала да велики број агенаса природног порекла показује генотоксични ефекат, праћење фреквенце МН у лимфоцитима је од великог значаја. Прегледом литературе утврђено је да су карцином колона и процес апоптозе веома актуелни предмети истраживања. Испитиване биљне врсте традиционално се користе за лечење дигестивних поремећаја, међутим не постоје литературни подаци о њиховим ефектима на ћелије колон канцера (SW-480). Детаљно испитивање допринело би упознавању хемијског састава екстраката наведених биљних врста, потенцијалног ефекта на здраве и малигне ћелије, као и евентуалној примени у фитофармацији и медицини. Резултати постигнути у току израде дисертације ће омогућити, поред стручног усавршавања кандидата и допринос у развоју хумане генетике.

## 7. Материјал и методе истраживања

Експериментални део истраживања реализоваће се у Лабораторији за генетику, Лабораторији за молекуларну биологију Института за биологију и екологију Природно-математичког факултета у Крагујевцу и у Лабораторији за аналитичку хемију на Институту за хемију Природно-математичког факултета у Крагујевцу.

Теренска и лабораторијска испитивања / Анализе:

1. Узорковање и идентификација биљног материјала на територији Србије.
2. Лабораторијска обрада узоркованог биљног материјала и припрема биљних екстраката уз коришћење растварача различите поларности (метанол, ацетон и вода).
3. (а) Идентификација активних супстанци у екстрактима испитиваних врста биљака применом HPLC методе (High-Pressure Liquid Chromatography) и  
(б) квантитативна анализа укупних фенолних једињења и флавоноида у екстрактима применом спектрофотометријских метода.
4. Праћење биолошких ефеката *in vitro* након 24 и 72 сата инкубације ћелија (ћелијске линије карцинома колона-SW480) у присуству одговарајућих третмана (екстракти биљака и митомицин Ц, појединачно и комбиновани третмани).
  - 4.1. Одређивање цитотоксичности МТТ тестом
  - 4.2. Одређивање типа ћелијске смрти (рана апоптоза, касна апоптоза и некроза) применом флоуцитометрије (AnnexinV-FITC тест)
5. Испитивање генотоксичних ефеката различитих екстраката (метанолски, ацетонски и водени) биљних врста на хумане лимфоците здравих донора *in vitro* у појединачном и комбинованом третману са митомицином Ц применом ЦБМН теста
6. За статистичку обраду података кандидат ће користити SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) пакет, за Windows. Резултати ће се сматрати статистички значајним уколико је  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  или  $p < 0,001$ .

## 8. Очекивани резултати докторске дисертације

На основу овако дизајнираног експеримента, добијени резултати истраживања би имали како фундаментални научни, тако и шири апликативни значај. Резултати ове докторске дисертације допринели би комплетирању научних сазнања о комплексности цитотоксичних ефеката и механизма апоптозе испитиваних екстраката биљних врста *Artemisia vulgaris* L. и *Artemisia alba* Turra на SW480 ћелијску линију колон канцера. Очекује се проширивање сазнања о антигенотоксичном деловању поменутих биљних врста на хумане лимфоците здравих донора *in vitro* у комбинованом третману са познатим цитостатиком. Добијени резултати ће бити употребљени у научне сврхе и публиковани у међународним научним часописима и саопштени на научним скуповима. Закључци који би произашли из резултата ове студије отворили би више тема за даља истраживања.

## 9. Оквирни садржај докторске дисертације

Предложена докторска дисертација садржи следећа поглавља:

- 1) Увод
- 2) Циљ истраживања
- 3) Материјал и методе
- 4) Резултати
- 5) Дискусија
- 6) Закључци
- 7) Литература
- 8) Прилози

## 10. Име ментора са образложењем

За ментора се предлаже др Оливера Милошевић - Ђорђевић, редовни професор у Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета у Крагујевцу. Проф. др Оливера Милошевић - Ђорђевић се активно бави истраживањима из уже научне области Генетика, афирмисани је истраживач у области генотоксикологије и има више десетина радова публикованих у водећим међународним и домаћим часописима, који су цитирани 98 пута. Рецензирала је више десетина радова у познатим међународним и домаћим часописима. У току научно-истраживачког рада проф. др Оливера Милошевић - Ђорђевић била је непрекидно од 2004. године ангажована на пројектима финансираним од стране Министарства за науку, а у периоду 2006 - 2010. године била је руководилац пројекта (евиденциони број 143008). У текућем пројектном циклусу проф. др Оливера Милошевић - Ђорђевић је руководилац потпројекта у оквиру пројекта, евиденциони број ИИИ41010. Члан је уредничког одбора међународног часописа *Genetika*. Била је ментор две успешно одбрањене дисертације.

Имајући у виду циљеве и очекиване резултате ове докторске дисертације, као и област истраживања, проф. др Оливера Милошевић - Ђорђевић испуњава све услове предвиђене Законом, Правилником Универзитета и Стандардима акредитације да буде ментор ове докторске дисертације.

### **11. Научна област истраживања докторске дисертације**

Предложена тема докторске дисертације припада области Биологија, ужа научна област Генетика и еволуција.

### **12. Научна област чланова Комисије**

Предложени чланови комисије се баве научним радом у областима које су релевантне за тему предложене докторске дисертације.

Састав Комисије је следећи:

1. **Др Дарко Грујичић**, доцент уже научне области Генетика и еволуција, Природно-математички факултет Универзитета у Крагујевцу
2. **Др Снежана Марковић**, доцент уже научне области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија, Природно-математички факултет Универзитета у Крагујевцу
3. **Др Гордана Јоксић**, научни саветник, ужа научна област Генетичка токсикологија Институт за нуклеарне науке Винча, Београд

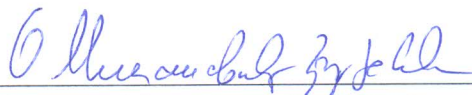
### **13. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ**

На основу изнетих података Комисија доноси закључак да кандидат **Марина Радовић** испуњава све услове за прихватање теме за израду докторске дисертације. Предложена тема припада области Биологија, ужа научна област Генетика и има како фундаментални научни тако и шири апликативни значај. Планирана истраживања су заснована на савременим научним сазнањима, а њихова реализација на примени савремених генетичких и молекуларно-биолошких метода. Стога, Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Природно-математичког факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата Марине Радовић под насловом:


**“Испитивање генотоксичних и цитотоксичних ефеката врста *Artemisia vulgaris* и *Artemisia alba* на хумане лимфоците *in vitro* и SW-480 ћелијску линију карцинома колона“**

У Крагујевцу  
16.05.2016. године

## ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ



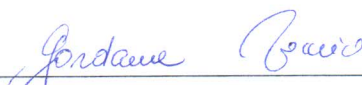
Др Оливера Милошевић-Ђорђевић, редовни професор ПМФ-а  
и Факултета медицински наука Универзитета у Крагујевцу,  
Ужа научна област Генетика и еволуција, ментор



Др Дарко Грујичић, доцент ПМФ-а Универзитета у  
Крагујевцу, Ужа научна област Генетика и еволуција



Др Снежана Марковић, доцент ПМФ-а Универзитета у  
Крагујевцу, Ужа научна област Физиологија животиња и  
човека и молекуларна биологија



Др Гордана Јоксић, научни саветник Института за  
нуклеарне науке "Винча" у Београду, Ужа научна област  
Генетичка токсикологија