

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО:		05.10.2022	
Оргјед:	Бр.:	Сл. одговорност:	
05	10	719	

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 13.09.2022. године, одлуком број IV-03-651/40 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Испитивање ефеката хроничне примене цисплатине и Ru(II) комплекса на изоловано срце и оксидациони стрес пацова“ кандидата Катарине Михајловић, у следећем саставу:

1. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник;
2. др Драган Ђурић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Физиологија*, члан;
3. др Јована Јеремић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска биотехнологија*, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Катарине Михајловић и подноси Наставно-научном већу следећи

2. Извештај комисије о оцени и одбрани завршене докторске дисертације

2.1. Опис докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата Катарине Михајловић под називом „Испитивање ефеката хроничне примене цисплатине и Ru(II) комплекса на изоловано срце и оксидациони стрес пацова“, урађена је под менторством проф. др Слободана Новокмета, редовног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на јасан и прецизан начин и цитирајући релевантну литературу изложила релевантне информације које се односе на примену антитуморских лекова, цисплатину и комплексна једињења рутенијума. Такође, изложени су најновији подаци који се тичу промена редокс равнотеже изазване цитостатицима, као и посредне улоге оксидационог стреса у настанку кардиотоксичности изазване цитостатицима.

Циљеви и хипотезе истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Циљ ове студије био је да се испитају ефекти комплекса рутенијума, $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{en})\text{Cl}][\text{Cl}]$, $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{dach})\text{Cl}][\text{Cl}]$ и $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{bpy})\text{Cl}][\text{Cl}]$, на срце и упореде са цисплатином. Посебна пажња је била усмерена и ка испитивању ефеката цисплатине и комплекса рутенијума на индукцију оксидационог стреса.

Материјал и методе рада су прецизно формулисани и подударају се са одобреним приликом пријаве тезе. Истраживање је осмишљено као експериментална студија на животињама и анималном материјалу *ex vivo* и *in vivo*. У студију је било укључено 60 *W. albino* пацова подељених у 5 група. Животиње су 4 недеље примале 4 mg/kg/недељно комплексе рутенијума, и цисплатину у истој дози и физиолошки раствор (4 ml/kg). На крају третмана, животиње су жртвоване, а срца су перфундована према Langendorff-овом моделу. У крви се одређивао ниво маркера оксидационог стреса и функције срца, бубрега и јетре.

Резултати истраживања су систематично приказани табелама (укупно 14), графиконима (укупно 160), схемама (укупно 9) и сликама (укупно 6). На основу изнетих резултата као кључни закључак намеће се да профил токсичности $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{en})\text{Cl}][\text{Cl}]$ смањује изгледе за потенцијалну терапијску примену, док би $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{dach})\text{Cl}][\text{Cl}]$ и $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{bpy})\text{Cl}][\text{Cl}]$ могли бити потенцијални кандидати за даљи развој, уз хемијске модификације које би умањиле токсичност, а повећале биолошку активност.

У поглављу „Дискусија“ детаљно су објашњени резултати истраживања, тако што је објашњена анализа хроничне примене комплекса рутенијума на морфометријске карактеристике, кардиодинамске параметре и коронарни проток изолованог срца, параметре оксидационог стреса у коронарном венском ефлуенту, маркере апоптозе и хистолошке промене органа пацова.

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

Карцином је данас први или други најчешћи узрок преране смртности у већини земаља света. Очекује се да ће на глобалном нивоу број људи оболелих од карцинома значајно расти у наредних 50 година услед снажног утицаја демографских промена, као што су раст становништва и старење, са претпоставком удвостручења учесталости свих врста карцинома. Поред многих стратегија за спречавање карцинома, велико глобално оптерећење малигним обољењима усмерило је и велику пажњу научника ка развоју ефикаснијих и безбеднијих лекова. Научна достигнућа савремене медицине и високих технологија која рапидно расту омогућавају примену нових успешних модалитета лечења различитих врста тумора. Металофармацеутици представљају примере сложених једињења која се дуго времена изучавају у неорганској медицинској хемији као потенцијални терапеутски агенси. Неколико металофармацеутика су испољили значајну терапијску ефикасност у клиничкој пракси, а много више њих су испитивани у различитим фазама клиничких испитивања. Хемија координационих једињења – металофармацеутика, представља платформу за дизајн нових лекова. Поред евидентног напретка постоје и

одређена ограничења и изазови који се морају савладати пре него што се остваре пуне предности нових металофармацеутика у медицини и фармацији. У последњих неколико деценија, медицински хемичари су своје напоре усмерили ка рационалном дизајну металофармацеутика. Познато је да прелазни метали показују јединствене карактеристике, као што је редокс активност и реактивност према одређеним органским супстратима. Ова својства прелазних метала су омогућила синтезу комплекса метала који се могу везати за одређене биомолекуле и тиме ометати механизме пролиферације ћелија. Хемиотерапија и циљана терапија могу утицати на кардиоваскуларни систем, како на централном нивоу погоршањем функције срца, тако и на периферији појачањем промене хемодинамског протока и настанком тромботичних догађаја. Кардиотоксичност се може јавити током или непосредно након лечења (у року од неколико дана или недеља), или пак неколико година након престанка примене антитуморске терапије.

Имајући у виду наведене чињенице, циљ овог истраживања је испитивање ефеката комплекса рутенијума, $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{en})\text{Cl}][\text{Cl}]$, $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{dach})\text{Cl}][\text{Cl}]$ и $[\text{Ru}(\text{Cl-tpy})(\text{bpy})\text{Cl}][\text{Cl}]$, на изоловано срце и оксидациони стрес пацова.

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

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „*Medline*“ и „*KoBSON*“, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*ruthenium(II) complexes*“, „*cisplatin*“, „*isolated heart*“, и „*oxidative stress*“ нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Катарине Михајловић под називом „**Испитивање ефеката хроничне примене цисплатине и Ru(II) комплекса на изоловано срце и оксидациони стрес пацова**“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.4. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Мр рн Катарина Михајловић рођена је 17.05.1987. године у Краљеву. Основну школу и Прву крагујевачку гимназију завршила је у Крагујевцу са одличним успехом. Интегрисане академске студије фармације на Медицинском факултету у Крагујевцу уписала је школске 2006/2007. године, а завршила их на истом факултету 11.07.2011. године са просечном оценом 9,51, чиме је стекла стручно звање магистар фармације. Током студија је награђивана више пута за постигнуте изузетне успехе. Након обављеног приправничког стажа положила је стручни испит у децембру 2012. године.

Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Молекулска медицина- подподручје Клиничка и експериментална фармакологија, уписала је школске 2011/2012. године. Положила је све испите предвиђене планом и програмом студијског програма са просечном оценом 9,50. Усмени докторски испит положила је 16.10.2015. године оценом 9.

Од 27.02.2013. године запослена је на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, најпре као сарадник у настави за ужу научну област Фармацеутска биотехнологија. Од 2015. године активно учествује у научно-истраживачком раду Лабораторије за кардиоваскуларну физиологију Факултета медицинских наука. Аутор је бројних радова публикованих у домаћим и међународним часописима. Учесник је више међународних конгреса, а на једном од њих и добитник награде „2019 Canadian Journal of Physiology and Pharmacology Young Investigator Award in Cardiovascular Sciences” на конгресу одржаном у Врњачкој Бањи септембра 2019. године. Ангажована је као коистраживач на два јуниор пројекта Факултета медицинских наука у Крагујевцу.

Кандидат је аутор више оригиналних научних радова и први аутор у једном раду објављеном у часопису индексираном на *SCI* листи. Резултати рада наведени под редним бројем 1 саставни су део докторске дисертације, чиме је кандидат испунио услов за одбрану докторске дисертације.

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

1. **Mihajlovic K**, Milosavljevic I, Jeremic J, Savic M, Sretenovic J, Srejovic I, Zivkovic V, Jovicic N, Paunovic M, Bolevich S, Jakovljevic V, Novokmet S. Redox and apoptotic potential of novel ruthenium complexes in rat blood and heart. *Can J Physiol Pharmacol*. 2021;99(2):207-217. **M23**
2. Joksimovic Jovic J, Sretenovic J, Jovic N, Rudic J, Zivkovic V, Srejovic I, **Mihajlovic K**, Draginic N, Andjic M, Milinkovic M, Milosavljevic Z, Jakovljevic V. Cardiovascular Properties of the Androgen-Induced PCOS Model in Rats: The Role of Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2021;2021:8862878. **M21**
3. Stojic IM, Jakovljevic VL, Zivkovic VI, Srejovic IM, Nikolic TR, Jeremic JN, Jeremic NS, Djuric DM, **Radonjic KG**, Labudovic-Borovic M, Bugarcic ZD, Bogojeski J, Novokmet SS. The perfusion of cisplatin and cisplatin structural analogues through the isolated rat heart: The effects on coronary flow and cardiodynamic parameters. *Gen Physiol Biophys*. 2018;37(5):515-525. **M23**

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

Сprovedено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација кандидата Катарине Михајловић садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви и хипотезе, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Написана је на 202 стране и има 160 графикона, 14 табела, 6 слика и 9 схема. Поглавље Литература садржи 310 цитираних библиографских јединица из иностраних и домаћих стручних публикација.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата Катарине Михајловић под називом „Испитивање ефеката

хроничне примене цисплатине и Ru(II) комплекса на изоловано срце и оксидациони стрес пацова“, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.6. Научни резултати докторске дисертације

- Комплекси рутенијума са диаминоциклохексаном и бипиридином, за разлику од комплекса рутенијума са етилендиамином и цисплатином, не смањују телесну масу, слично контроли, што је од потенцијалне терапијске користи. Утицај свих испитиваних комплекса рутенијума на масу јетре су били упоредиви са контролом, при чему је цисплатина довела до смањења масе јетре, док није било разлике између испитиваних група у погледу масе срца и бубрега.
- Унутар ауторегулаторног ранга, сва три испитивана комплекса рутенијума нису изазвала значајна одступања у вредностима испитиваних кардиодинамских и параметара коронарне циркулације, за разлику од цисплатине која је негативно утицала на релаксацију миокарда.
- Комплекси рутенијума су имали повољније ефекте на контрактилност миокарда у односу на цисплатину, иако су испољили неповољнија дејства у односу на контролни третман.
- Комплекси рутенијума са диаминоциклохексаном и бипиридином су изазвали пораст систолног и дијастолног притиска у левој комори изолованог срца пацова, што би такође представљало потенцијану терапијску корист, за разлику од комплекса рутенијума са етилендиамином и цисплатином који су довели до снижења крвног притиска.
- Комплекси рутенијума и цисплатина нису имали утицаја на електричну активност спроводног система срца и нису мењали срчану фреквенцу.
- Комплекс рутенијума са етилендиамином и цисплатина негативно утичу на коронарни проток у условима хипероксије док остала два испитивана комплекса рутенијума не мењају значајно коронарни проток изолованог срца пацова.
- Коронарни венски ефлуент садржи више концентрације слободних радикала при чему се детектују селективна дејства појединих супстанци на различите параметре и то: супероксид анјон радикала у групи изложених цисплатини, водоник пероксида у експерименталним групама изложених комплексу рутенијума са етилендиамином и бипиридином и цисплатини, TBARS у групи изложених комплексу рутенијума са етилендиамином и бипиридином, и нитрита у експерименталној групи јединки изложених комплексу рутенијума са диаминоциклохексаном и цисплатини.
- Сва три испитивана комплекса рутенијума су индуковала повећање синтезе водоник пероксида у плазми, а цисплатина је довела до повећања свих испитиваних прооксидационих маркера: супероксид анјон радикала, водоник пероксида, TBARS и нитрита.

- Активност каталазе у еритроцитима су значајно смањили комплекси рутенијума са етилендиамином и бипиридином, док је комплекс рутенијума са диаминоциклохексаном изазвао повећање активности овог ензима, у односу на контролу и цисплатину.
- Сви испитивани комплекси рутенијума значајно смањују активност супероксид дисмутазе у еритроцитима у односу на контролни третман, док комплекс рутенијума са етилендиамином повећава активност овог ензима у поређењу са дејством цисплатине.
- Активност глутатион пероксидазе у еритроцитима је значајно смањена под утицајем комплекса рутенијума са бипиридином, док комплекс рутенијума са диаминоциклохексаном и цисплатина изазвају повећање активности овог ензима.
- Концентрација редукованог глутатиона у еритроцитима је значајно смањена под утицајем свих испитиваних комплекса рутенијума, сем комплекса рутенијума са етилендиамином. Концентрација оксидованог глутатиона у еритроцитима је значајно повећана под утицајем комплекса рутенијума са етилендиамином и диаминоциклохексаном у поређењу са цисплатином, док је смањена под дејством комплекса рутенијума са бипиридином и цисплатином.
- Комплекси рутенијума са етилендиамином и диаминоциклохексаном смањују однос GSH и GSSG, док комплекс рутенијума са бипиридином и цисплатина повећавају овај однос.
- Концентрација TBARS у срчаном ткиву је значајно повећана дејством цисплатине, док су ефекти комплекса рутенијума упоредиви са контролом. Активност каталазе у срчаном ткиву је значајно смањена под утицајем сва три комплекса рутенијума и цисплатине, у односу на контролу. Испитивани металофармацеутици не утичу значајно на промену активности супероксид дисмутазе у срчаном ткиву. Концентрација редукованог глутатиона у срчаном ткиву је значајно смањена под дејством сва четири испитивана металофармацеутика, у односу на контролни третман.
- Уочене су одређене разлике поједних дејстава неких испитиваних комплекса рутенијума у срчаном ткиву, с једне и коронарном венском ефлуенту, плазми и еритроцитима, с друге стране.
- Релативна експресија гена за проапоптотски маркер Вах је била значајно снижена под дејством испитиваних комплекса рутенијума у односу на цисплатину и контролни третман. Релативна експресија гена за проапоптотски маркер каспазу 3 је била значајно снижена под утицајем комплекса рутенијума у односу на цисплатину, а комплекс са бипиридином је у односу на контролни третман изазвао повећану експресију овог маркера.
- Релативна експресија гена за антиапоптотски маркер Bcl-2 је била повећана под утицајем комплекса рутенијума са бипиридином у односу на контролу, док остала три комплекса нису значајно мењала овај биомаркер.

- Концентрације укупног холестерола и LDL у серуму су значајно повећане под дејством цисплатине док их испитивани комплекси рутенијума не мењају, у поређењу са контролним третманом. Испитивани металофармацеутици не мењају концентрације HDL у серуму. Концентрације триглицерида су значајно повећане под утицајем комплекса рутенијума са етилендиамином и диаминоциклохексаном, у поређењу са цисплатином.
- Активност LDH у серуму је значајно повећана под дејством три металофармацеутика, комплекса рутенијума са диаминоциклохексаном и бипиридином, као и цисплатине, у односу на контролни третман.
- Активност СК у серуму је значајно повећана под дејством комплекса рутенијума са етилендиамином у односу на контролу, док остала три металофармацеутика не мењају активност овог ензима. Испитивани комплекси рутенијума не мењају активност кардиоспецифичног ензима СК-МВ у серуму, за разлику од цисплатине која је изазвала повећање активности овог ензима.
- Комплекс рутенијума са бипиридином је изазвао значајно повећање серумске концентрације срчаног тропонина, док остала два испитивана рутенијумска комплекса и цисплатина не мењају значајно вредности овог молекула у серуму у односу на контролни третман.
- Активност AST у серуму значајно је повећана у групама експерименталних животиња изложеним испитиваним металофармацеутицима у односу на контролни третман. Активност ALT у серуму није значајно повећана у групама експерименталних животиња изложеним испитиваним металофармацеутицима, у односу на контролни третман.
- Испитивани металофармацеутици не изазивају значајно повећање серумских концентрација урее и креатинина, у односу на контролни третман.
- Највећи потенцијал за изазивање хистопатолошких оштећења срчаног ткива је имала цисплатина а потом комплекс рутенијума са бипиридином, док су комплекси рутенијума са етилендиамином и диаминоциклохексаном изазвали знатно мање промене.
- Највећи потенцијал за изазивање хистопатолошких оштећења јетре је имао комплекс рутенијума са диаминоциклохексаном а потом цисплатина, док су комплекси рутенијума са етилендиамином и бипиридином изазвали знатно мање промене.
- Највећи потенцијал за изазивање хистопатолошких оштећења бубрега је имала цисплатина, док су комплекси рутенијума изазвали знатно мање или незнатне промене.

2.7. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригиналан допринос разумевању ефеката нових металофармацеутика као потенцијалних нових цитостатика, и њиховим нежељеним ефектима који се односе на кардиотоксичност и оксидациони стрес.

2.8. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на SCI листи (категорија M23).

1. **Mihajlovic K**, Milosavljevic I, Jeremic J, Savic M, Sretenovic J, Srejovic I, Zivkovic V, Jovicic N, Paunovic M, Bolevich S, Jakovljevic V, Novokmet S. Redox and apoptotic potential of novel ruthenium complexes in rat blood and heart. *Can J Physiol Pharmacol.* 2021;99(2):207-217. **M23**

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Катарине Михајловић под називом „Испитивање ефеката хроничне примене цисплатине и Ru(II) комплекса на изоловано срце и оксидациони стрес пацова“, сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Катарине Михајловић, урађена под менторством проф. др Слободана Новокмета, представља оригинални научни допринос разумевању ефеката хроничне примене цисплатине и Ru(II) комплекса на изоловано срце и оксидациони стрес пацова.

Комисија са задовољством предлаже предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Испитивање ефеката хроничне примене цисплатине и Ru(II) комплекса на изоловано срце и оксидациони стрес пацова“, кандидата Катарине Михајловић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник

др Драган Ђурић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у
Београду за ужу научну област *Физиологија*, члан

др Јована Јеремић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
за ужу научну област *Фармацеутска биотехнологија*, члан

У Крагујевцу, 26.09.2022. године