

НАЗИВ ФАКУЛТЕТА МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ  
-обавезна садржина- свака рубрика мора бити попуњена

(сви подаци уписују се у одговарајућу рубрику, а назив и место рубрике не могу се мењати или изоставити)

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију <b>18.02.2019. године, Наставно-научно веће Медицинског факултета Нови Сад, Универзитет у Новом Саду</b></p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен: <b>Проф. др Снежана Ђорђевић</b>, ванредни професор, ужа научна област: Медицинска хемија, 29.12.2017. године, Медицински факултет Војномедицинске академије, Универзитет одбране, Београд <b>Проф. др Велибор Васовић</b>, редовни професор, ужа научна област: Фармакологија са токсикологијом, 13.11.2013. године, Медицински факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду <b>Проф. др Љиља Торовић</b>, ванредни професор, ужа научна област: Фармација (броматологија), 21.04.2016. године, Медицински факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду</p>
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: <b>Дуња, Бориша, Јаковљевић</b></p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: <b>06.03.1988., Нови Сад, Србија</b></p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив <b>Медицински факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду, смер Фармација, магистар фармације 2012. године</b></p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија <b>2012. година, Докторске студије клиничке медицине</b></p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: -</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: -</p>
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
<b>Биолошко дејство воденог екстракта плода штавела (<i>Rumex crispus</i> L., Polygonaceae)</b>
<b>IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>
Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикана и сл.

Докторска дисертација кандидата Дуње Јаковљевић је прегледно написана на укупно 248 страна (XIV+234). Садржи све неопходне делове научног рада, уобличене у седам поглавља (Увод, Општи део, Циљеви и радне хипотезе, Материјал и методе, Резултати и дискусија, Закључак, Литература). Дисертација садржи 20 слика, 40 графикона и 95 табела. У литератури су цитиране 183 библиографске јединице. На почетку је дата кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.

У уводном делу докторске дисертације кандидат је јасно истакао значајне чињенице, које уводе у проблематику којом ће се бавити у оквиру истраживања. У општем делу докторске дисертације кандидат је детаљно описао комплексност проблематике, која је проучена у оквиру истраживања. Циљеви рада и радне хипотезе су јасно изложени, прецизно формулисани и омогућавају доношење конкретних закључака. У поглављу Материјал и методе детаљно су описани сви експериментални поступци, дизајн експеримената, као и сви биохемијски тестови, који су коришћени током израде докторске дисертације. Након добијања резултата, урађена је детаљна статистичка обрада података. Резултати докторске дисертације су детаљно и систематски представљени у дисертацији, дискутовани и упоређивани са сличним научним радовима, и сажето изнети у закључцима рада. Литературни подаци су приказани по Ванкуверским правилима.

#### **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

**Наслов докторске дисертације:** „Биолошко дејство воденог екстракта плода штавеља (*Rumex crispus* L., Polygonaceae)“.

**Увод** је написан јасно и адекватно уводи у проблематику, која ће бити предмет истраживања. Истакнуто је да иако се сматра коровском биљком, подаци о употреби штавеља (*Rumex crispus* L., Polygonaceae) у народној медицини датирају много пре него што је наука почела да потврђује лековита својства екстракта штавеља. Фитохемијска испитивања показала су да екстракти штавеља садрже полифенолна једињења, нарочито флавоноиде, од којих потичу одређена лековита дејства ове биљке: антиоксидантно, антиинфламаторно и антиинфламаторно деловање. Истиче се да постоји недостатак литературних података о потенцијалним дејствима воденог екстракта плода штавеља.

**Општи део** је написан систематично и детаљно, и пружа свеобухватан увид у комплексност проблематике обрађиване теме. У општем делу докторске дисертације најпре је дат детаљан опис биљке штавел, њен фитохемијски састав, са посебним освртом на флавоноиде, лековита својства штавеља у народној медицини, као и преглед биолошких деловања различитих екстракта штавеља, доступних у научним радовима. Детаљно је изучено антиоксидантно и антиинфламаторно деловање, као и малигна трансформација ћелија, односно улога реактивних кисеоничних и азотних врста у процесу настанка, опстанка и евентуалне смрти малигно трансформисаних ћелија. Описан је и начин настанка оксидативног стреса, као важног етиолошког фактора многих болести.

*Комисија сматра да је наслов рада јасно и прецизно формулисан и у складу је са садржајем рада. У уводном делу је адекватно наговештена тема, док је у општем делу оправдана тема испитивања. Поглавља Увод и Општи део су написана разумљиво и систематски и пружају целокупан приказ проблематике којом ће се бавити истраживање.*

**Циљеви истраживања** су јасно и прецизно формулисани и омогућавају доношење

конкретних закључака. **Радне хипотезе** су логичне, јасно дефинисане и имају научно оправдање. На основу њих јасно је која ће се испитивања спровести. Циљеви докторске дисертације су били испитивање хемијског састава воденог екстракта плода *Rumex crispus*, испитивање антиоксидантне активности *in vitro*, и ефекта поменутог екстракта на раст туморских ћелија *in vitro*, као и цитотоксичности екстракта на раст ћелија пореклом од здравог ткива *in vitro*. Затим, даљи циљеви су се односили на испитивање антиоксидантне активности воденог екстракта плода штавеља *in vivo*, хепатопротективног или хепатотоксичног деловања испитиваног екстракта *in vivo*, као и испитивање антитуморског деловања поменутог екстракта *in vivo* према ћелијама *Ehrlich*-овог асцитног тумора (*EAC*) и *Hepatoma AS30D*. Поред овога, циљ је био и утврђивање потенцијалног *in vitro* антиинфламаторног деловања испитиваног екстракта.

*Комисија сматра да су хипотезе реално постављене у односу на адекватно дефинисане циљеве истраживања.*

**Материјал и методе** рада одговарају принципима методологије научно-истраживачког рада у медицини. У поглављу Материјал и методе детаљно су описани сви експериментални поступци, дизајн експеримената, као и сви биохемијски тестови, који су коришћени током израде докторске дисертације. Прецизно је дефинисан начин избора и величина узорка. Методе рада су јасно формулисане. Приказани материјал и методе за испитивање су одговарајући и у складу са постављеним задацима и циљевима. Биљни материјал, чији је биолошки потенцијал био предмет испитивања у овој докторској дисертацији, представљају зрели плодови штавеља (*Rumex crispus* L., Polygonaceae) сакупљени у лето, током августа, у самониклом ливадском појасу у Кумодражу (Београд, Република Србија). Биљни материјал је прегледан и депонован у колекцији примерака јемства (енг. *Voucher collection*) Хербаријума Фармацеутског факултета, у Београду. Детерминацију је извршио проф. др Радиша Јанчић, Фармацеутски факултет у Београду. Додељен ваучер број је 3874. За испитивања је коришћен водени екстракт плода штавеља (*Rumex crispus* L., Polygonaceae). При одређивању фитохемијског састава воденог екстракта плода штавеља коришћене су детаљно описане UV/Vis спектрофотометријска метода, као и метода која је обухватила анализу екстракта употребом високоефикасне течне хроматографије (*High Performance Liquid Chromatography, HPLC*). Антиоксидантна активност воденог екстракта плода штавеља процењена је на основу *in vitro* тестова: *Ferric-reducing antioxidant power (FRAP)*, способности екстракта да неутралише слободне радикале NO•, OH• и DPPH• и утицаја на липидну пероксидацију у липозомима. Даље истраживање је спроведено на културама ћелија, као и на експерименталним животињама: мишевима и пацовима. Цитотоксичност испитиваног екстракта је одређена *in vitro* на туморским ћелијским линијама: хумани карцином цервикса (HeLa), аденокарцином (HT-29) и аденокарцином дојке (MCF7). Оптимизован *in vitro* тест за одређивање потенцијала инхибиције циклооксигеназе-1 (COX-1) и 12-липооксигеназе (12-LOX) предузет је у сврху процене антиинфламаторног ефекта воденог екстракта плода штавеља. *In vivo* испитивања антиоксидантних/прооксидантних и цитотоксичних ефеката воденог екстракта плода штавеља вршила су се на експерименталним животињама: мужјацима и женкама мишева соја *Hannover National Medical Institute* (Hann:NMRI) и мужјацима и женкама пацова соја *Sprague Dawley*. Све животиње су добијене из лабораторије Самосталног одсека за биохемију Центра за лабораторијску медицину, Клиничког центра Војводине (Нови Сад, Србија). Поступак рада са животињама и сви експериментални протоколи су спроведени у складу са „Правилником о условима за упис у регистар за огледе на животињама и садржини и начину вођења тог Регистра, програму обуке о добробити огледних животиња,

обрасцу захтева за одобрење спровођења огледа на животињама, начину неге, поступања и лишавању живота огледних животиња, као и садржини и начину вођења евиденције о држању, репродукцији, промету, односно спровођењу огледа на животињама” (“Службени гласник РС”, бр. 39/10) Управа за ветерину Министарства пољоприведе, шумарства и водопривреде Републике Србије. Етичка комисија Универзитета у Новом Саду је дала позитивно Мишљење (број: 01-131/3-2 од 05.05.2014. године, број документа ЕК: И-2014-03), на основу ког је Управа за ветерину Министарства пољоприведе, шумарства и водопривреде Републике Србије дала Решење о одобрењу спровођења огледа на животињама број: 323-07-00550/2015-05 од 02.02.2015. године. Могућа *in vivo* хепатопротективна и антиоксидантна својства екстракта одређена су код оксидативног стреса изазваног угљентетрахлоридом (CCl<sub>4</sub>) код експерименталних животиња. На крају експеримента, животиње су биле измерене, анестезиране изофлуораном и декапитоване. Сакупљени су узорци крви и јетре за биохемијске анализе. Одређени су следећи параметри: телесна маса животиња, маса јетре, садржај укупних протеина и хидроксипролина, садржај хепатичне ДНК, активности АСТ и АЛТ, и количина билирубина, као и активност неколико антиоксидантних ензима (супероксид дисмутазе, ксантин оксидазе, каталазе, глутатион редуктазе, глутатион пероксидазе), садржај глутатиона и интензитет липидне пероксидације. Поред тога, проверена је хипотеза у којој тестиран екстракт показује *in vivo* антипролиферативну активност код *Ehrlich*-ових (*EAC*) и *Hepatom-a AS30D* ћелија, мерењем запремине асцитеса, процента вијабилних ћелија и нивоа одабраних антиоксидантних ензима (супероксид дисмутазе, ксантин оксидазе, каталазе, глутатион редуктазе, глутатион пероксидазе), као и садржаја глутатиона и интензитета липидне пероксидације. Експерименталне животиње, са имплантираним малигно трансформисаним ћелијама *EAC/AS30D*, претходно подељене у групе, примале су *per os* 5% водени екстракт плода штавеља, или познати антиоксидант N-ацетил-L-цистеин (NALC), или физиолошки раствор, у различито време од момента имплантације малигно трансформисаних ћелија. Група мишева/пацова претретман примала је поменути 5% екстракт, односно NALC, одговарајуће дозе 1 mL/kg телесне масе (т.м.), 2 mL/kg т.м. или 5 mL/kg т.м. (*per os*), током 7 дана, а ћелије *EAC/AS30D* су имплантиране 7. дана. Група мишева/пацова третман примала је испитивани 5% екстракт, односно NALC, одговарајуће дозе 1 mL/kg т.м., 2 mL/kg т.м. или 5 mL/kg т.м. (*per os*), 7 дана, а ћелије *EAC/AS30D* су имплантиране 1. дана. Група мишева/пацова постретман примала је 5% водени екстракт плода штавеља, односно NALC, одговарајуће дозе 1 mL/kg т.м., 2 mL/kg т.м. или 5 mL/kg т.м. (*per os*), током 7 дана, са почетком 7 дана након имплантације ћелија *EAC/AS30D*. Након добијања резултата, урађена је детаљна статистичка обрада података. Резултати, добијени мерењем одређеног броја узорака, изражени су као средња вредност±стандардна девијација средње вредности. Урађен је Студентов т-тест ради идентификације статистичких разлика. *p* вредности 0,05 или ниже (*p*<0,05) сматране су статистички значајним. За поређење резултата добијених за различите концентрације екстракта, различите начине апликације екстраката, или разлике по два параметра (екстракт/доза, односно екстракт/начин апликације), коришћене су две статистичке методе: једнофакторска и двофакторска анализа варијансе (АНОВА). Значајне статистичке разлике су идентификоване применом два *post-hoc* теста: *Tuckey* теста, и *Bonferroni post-hoc* теста.

*Комисија сматра да су изабране методе адекватне, одговарају постављеним циљевима и омогућавају добијање актуелних и квалитетних научних резултата. Примењене методе статистичке обраде података су примерене и адекватне.*

**Резултати** испитивања јасно приказују претходно текстуално објашњене елементе.

Резултати произилазе из примењених метода уз коришћење савремених статистичких метода. Приказани су уверљиво, прегледно и стручно, табеларно и графички. Може се закључити да су резултати јасно приказани, научно значајни и потпуно разумљиво осликавају истраживану проблематику. **Дискусија** је приказана прегледно, исцрпно и детаљно. Стил писања је у складу са српским језиком, јасан, прецизан и разумљив. Кандидат аргументовано и критички анализира резултате и компарира их са резултатима других аутора из релевантне савремене литературе. Коментари и тумачења резултата су логични. Кандидат систематично дискутује сваку целину из поглавља, уз јасна тумачења сопствених резултата и извођења медицински заснованих закључака. Показано је добро познавање литературе у оквиру проблематике којом се бави ова дисертација, уз критички одабране и уверљиве литературне податке. Поред приказаних резултата, дат је предлог могућег и највероватнијег механизма дејства из којег су проистекли добијени резултати. У дискусији нису утврђене нелогичности. Показано је да у фитохемијски састав воденог екстракта плода штавеља улазе полифенолна једињења – флавоноиди. Најдоминантнији флавоноидни хетерозид је миквелианин, а затим следи хиперозид. Миквелианин и хиперозид као агликонску компоненту садрже кверцетин. Испитивањем *in vitro* антиоксидантних својстава воденог екстракта плода *Rumex crispus* уочено је да је испитивани екстракт показао изражен потенцијални антиоксидантни ефекат, значајно снижавајући интензитет липидне пероксидације и продукције хидроксил радикала, у поређењу са контролном групом. Поред тога, водени екстракт плода штавеља значајно је инхибирао DPPH• радикал у односу на референтну супстанцу Тролокс. Мерење укупне антиоксидантне активности изражене преко FRAP јединице показало је да би се испитивани екстракт могао сматрати потенцијалним антиоксидантним агенсом. Водени екстракт плода штавеља у концентрацији 2,5% је инхибирао настанак азот-моноксида, док је у другим концентрацијама довео до повећања продукције NO. Стимулација производње NO би могла бити механизам антитуморског дејства воденог екстракта плода штавеља. *In vitro* истраживања антитуморске активности поменутог екстракта према ћелијским линијама HeLa, MCF7 и HT-29, показала су значајна могућа цитотоксична својства испитиваног екстракта. Најизраженија антитуморска активност екстракта уочена је према ћелијској линији HeLa. У *in vivo* испитивању хепатотоксичних/хепатопротективних ефеката воденог екстракта плода штавеља уочено је да је концентрација екстракта 5% у присуству угљентетрахлорида у највећој могућој мери поништила негативне ефекте угљентетрахлорида, одржавајући вредности у оквиру контролних за параметре: телесна маса животиња и садржај хепатичне ДНК. За остале параметре (маса јетре, садржај укупних протеина и хидроксипролина, активности АСТ и АЛТ, и количина билирубина), концентрација екстракта 5% није у потпуности спречила прооксидантно деловање угљентетрахлорида, јер и даље постоји значајна разлика у односу на контролну групу. Међутим, и код ових параметара испитивани екстракт показао је потенцијални хепатопротективни и антиоксидантни ефекат. *In vivo* испитивања активности антиоксидантних ензима код оксидативног стреса изазваног угљентетрахлоридом и након примене испитиваног екстракта показала су да је водени екстракт плода штавеља узроковао пораст активности ензима супероксид дисмутазе, каталазе и глутатион редуктазе, снижење активности ензима ксантин оксидазе и глутатион пероксидазе, затим повећање садржаја глутатиона и смањење интензитета липидне пероксидације, израженог преко количине малонилдиалдехида (МДА). Ови резултати указују на повећан антиоксидантни статус ћелија након примене испитиваног екстракта код CCl<sub>4</sub>-третиране групе. Испитивање *in vivo* утицаја поменутог екстракта на малигно трансформисане ћелије EAC/AS30D указало је на потенцијалну цитотоксичну активност према овим ћелијама.

Екстракт је показао способност смањења запремине асцитеса и броја малигнух ћелија *EAC/AS30D*, као и повећања процента невијабилних ћелија, у односу на контролну групу. Даље, примена воденог екстракта плода штавеља узроковала је снижавање активности ензима супероксид дисмутазе и каталазе, повећање активности ензима ксантин оксидазе, глутатион пероксидазе и глутатион редуктазе, без промена садржаја глутатиона, уз интензивнију липидну пероксидацију у малигним ћелијама *EAC/AS30D*. Ови ефекти су били најизраженији након претретмана екстрактом, у дози 2 mL/kg телесне масе. Резултати указују да би цитотоксичност екстракта могла потицати од прооксидантне активности коју испољава, снижавајући антиоксидантни капацитет малигнух ћелија *EAC/AS30D*. *In vitro* испитивања потенцијалне антиинфламаторне активности воденог екстракта плода штавеља указују да би се испитивани екстракт могао посматрати као могући антиинфламаторни агенс. Екстракт је показао потенцијалан инхибиторни ефекат на ензиме циклооксигеназа-1 и 12-липооксигеназа, а ова својства вероватно потичу од садржаја флавоноида у екстракту.

*Комисија сматра да су резултати оригинални и реално приказани, јасни за интерпретацију и свеобухватни. Примењене методе статистичке обраде података су сврсисходне, прецизне и адекватне. Дискусија добијених резултата је исцрпна, научно утемељена, указује на добро познавање проучаване проблематике уз критички осврт у односу на актуелну литературу.*

**Закључци** су приказани прегледно, темеље се и изведени су из добијених резултата истраживања. На основу изведених закључака евидентно је да су јасно постигнути циљеви истраживања и потврђене радне хипотезе. Закључци истраживања су применљиви како у научном, тако и у стручном погледу.

*Комисија сматра да су закључци логично изведени из резултата истраживања, прегледно изнети и произилазе из добро постављених циљева и примене адекватних метода.*

**Литература** је дата прегледно, савремена и приказана кроз релевантне библиографске јединице у односу на испитивану тематику. Литературни подаци су приказани по Ванкуверским правилима на прописан начин и обухватају све сегменте истраживања.

*Комисија сматра да су литературни наводи актуелни, адекватно одабрани за компарацију са резултатима актуелног истраживања.*

*Комисија позитивно оцењује све делове докторске дисертације.*

## **VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01.јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

1. Ćebović T, **Jakovljević D**, Maksimović Z, Đorđević S, Jakovljević S, Ćetojević-Simin D. Antioxidant and cytotoxic activities of curly dock (*Rumex crispus* L., Polygonaceae) fruit extract. *Vojnosanit Pregl*. In press. DOI: 10.2298/VSP170713084C. (M23)

2. **Jakovljević D**, Četojević-Simin D, Ćebović T, Maksimović Z, Desančić J, Petrović V. Non-tumor/tumor IC<sub>50</sub> effects of *Rumex crispus* fruit extract. III International Congress Food Technology, Quality and Safety, XVII International Symposium Feed Technology; 2016 Oct 25-27; Novi Sad, Serbia. (M34)

3. **Jakovljević D**, Četojević-Simin D, Ćebović T, Maksimović Z, Petrović V, Desančić J. *In vitro* antitumor activity of yellow dock (*Rumex crispus* L., *Polygonaceae*) fruit extract. III International Congress Food Technology, Quality and Safety, XVII International Symposium Feed Technology; 2016 Oct 25-27; Novi Sad, Serbia. (M34)

4. Petrović V, Četojević-Simin D, Ćebović T, Milić N, Desančić J, **Jakovljević D**. Antitumor activity of horseradish juice and juice extracts *in vitro*. III International Congress Food Technology, Quality and Safety, XVII International Symposium Feed Technology; 2016 Oct 25-27; Novi Sad, Serbia. (M34)

5. **Jakovljević D**, Četojević-Simin D, Ćebović T, Maksimović Z. Cell-death mechanism of *Rumex crispus* L. fruit aqueous extract. International Conference on BioScience; 2016 Sep 19-21; Novi Sad, Serbia. (M34)

6. **Jakovljević D**, Ćebović T, Maksimović Z, Četojević-Simin D. Determination of total polyphenol content in aqueous fruit extract of *Rumex crispus* L., *Polygonaceae*. International Conference on BioScience; 2016 Sep 19-21; Novi Sad, Serbia. (M34)

7. Ćebović T, **Jakovljević D**. Evaluation of the cytotoxic and antioxidant effects of the non-polar *Viscum album* L. extract (collected from *Juniperus communis*). 3<sup>rd</sup> Drug Discovery and Development Conference; 2014 Jan 21-23; Dubai, U.A.E. (M34)

8. **Jakovljević D**, Ćebović T. Evaluation of the cytotoxic and antioxidant effects of the non-polar *Viscum album* L. extract (collected from *Juniperus communis*). International conference on natural products utilization: from plants to pharmacy shelf; 2013 Nov 3-6; Bansko, Bulgaria. (M34)

## VII ZAKЉUČCI OДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу добијених резултата истраживања формулисани су јасни закључци наведени у 7 тачака, редоследом који одговара постављеним циљевима:

1. У фитохемијски састав воденог екстракта плода штавеља улазе полифенолна једињења – флавоноиди. Најдоминантнији флавоноидни хетерозид је миквелианин, а затим следи хиперозид. Миквелианин и хиперозид као агликонску компоненту садрже кверцетин.
2. Испитивањем *in vitro* антиоксидантних својстава воденог екстракта плода *Rumex crispus* уочено је да је испитивани екстракт показао изражен потенцијални антиоксидантни ефекат, значајно снижавајући интензитет липидне пероксидације и продукције хидроксил радикала, у поређењу са контролном групом. Поред тога, водени екстракт плода штавеља значајно је инхибирао DPPH• радикал у односу на референтну супстанцу Тролокс. Мерење укупне антиоксидантне активности изражене преко FRAP јединице показало је да би се испитивани екстракт могао сматрати потенцијалним антиоксидантним агенсом. Водени екстракт плода штавеља у концентрацији 2,5% је инхибирао настанак азот-моноксида, док је у другим концентрацијама довео до повећања продукције NO. Стимулација производње NO би могла бити механизам антитуморског дејства воденог екстракта плода штавеља.
3. *In vitro* истраживања антитуморске активности поменутог екстракта према ћелијским линијама HeLa, MCF7 и HT-29, показала су значајна могућа цитотоксична својства

испитиваног екстракта. Најизраженија антитуморска активност екстракта уочена је према хелијској линији HeLa.

4. У *in vivo* испитивању хепатотоксичних/хепатопротективних ефеката воденог екстракта плода штавеља уочено је да је концентрација екстракта 5% у присуству угљентетрахлорида у највећој могућој мери поништила негативне ефекте угљентетрахлорида, одржавајући вредности у оквиру контролних за параметре: телесна маса животиња и садржај хепатичне ДНК. За остале параметре (маса јетре, садржај укупних протеина и хидроксипролина, активности АСТ и АЛТ, и количина билирубина), концентрација екстракта 5% није у потпуности спречила прооксидантно деловање угљентетрахлорида, јер и даље постоји значајна разлика у односу на контролну групу. Међутим, и код ових параметара испитивани екстракт показао је потенцијални хепатопротективни и антиоксидантни ефекат.
5. *In vivo* испитивања активности антиоксидантних ензима код оксидативног стреса изазваног угљентетрахлоридом и након примене испитиваног екстракта показала су да је водени екстракт плода штавеља узроковао пораст активности ензима супероксид дисмутазе, каталазе и глутатион редуктазе, снижење активности ензима ксантин оксидазе и глутатион пероксидазе, затим повећање садржаја глутатиона и смањење интензитета липидне пероксидације, израженог преко количине малонилдиалдехида (МДА). Ови резултати указују на повећан антиоксидантни статус хелија након примене испитиваног екстракта код СС<sub>1</sub>-третиране групе.
6. Испитивање *in vivo* утицаја испитиваног екстракта на малигно трансформисане хелије *EAC/AS30D* указало је на потенцијалну цитотоксичну активност према овим хелијама. Екстракт је показао способност смањења запремине асцитеса и броја малигну хелија *EAC/AS30D*, као и повећања процента невијабилних хелија, у односу на контролну групу. Даље, примена воденог екстракта плода штавеља узроковала је снижавање активности ензима супероксид дисмутазе и каталазе, повећање активности ензима ксантин оксидазе, глутатион пероксидазе и глутатион редуктазе, без промена садржаја глутатиона, уз интензивнију липидну пероксидацију у малигну хелијама *EAC/AS30D*. Ови ефекти су били најизраженији након претретмана 5% екстрактом, у дози 2 mL/kg телесне масе. Резултати указују да би цитотоксичност екстракта могла потицати од прооксидантне активности коју испољава, снижавајући антиоксидантни капацитет малигну хелија *EAC/AS30D*.
7. *In vitro* испитивања потенцијалне антиинфламаторне активности воденог екстракта плода штавеља указују да би се испитивани екстракт могао посматрати као могући антиинфламаторни агенс. Екстракт је показао потенцијалан инхибиторни ефекат на ензиме циклооксигеназа-1 и 12-липооксигеназа, а ова својства вероватно потичу од садржаја флавоноида у екстракту.

#### **VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА** Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Резултати истраживања су приказани прегледно и систематично уз коришћење табела и графикона. Приказане табеле и графикони су добро креирани, прегледни и информативни. Добијени резултати су јасно тумачени на основу најновијих доступних научних сазнања, на прикладан начин анализирани и логички повезани са литературним наводима. Интерпретација резултата је стручна и у складу са подацима из актуелне литературе, детаљно и критички су продискутовани. Закључци произилазе из резултата, адекватни су и



научно оправдани, а указују да кандидат добро познаје тематику дисертације.

*Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачење резултата истраживања.*

#### **IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

На основу претходно изложеног, докторска дисертација је, по мишљењу Комисије, написана у складу са образложењем кандидата наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Докторска дисертација садржи све битне елементе оригиналног научно-истраживачког рада на основу којих би се рад могао поновити. Рад је написан концизно и разумљиво, и резултат је самосталног истраживања кандидата.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Дисертација даје оригиналан научни допринос у области Биохемије. С обзиром да стопа малигну обобољења расте и захвата све млађе становништво, јасно је да проналажење потенцијално цитотоксичних агенаса представља велики допринос науци. Актуелност теме потврђују бројни радови који се баве проблематиком проналажења потенцијалних биљних екстракта способних да индукују оксидативни стрес у малигну трансформисаним ћелијама у сврху настанка смрти малигну ћелија. Такође, потврда могућег антиоксидантног својства воденог екстракта плода штавела може се сматрати доприносом науци. Велики број радова показује да би реактивне кисеоничне врсте могле бити значајан етиолошки фактор настанка и развоја многих болести, међу којима важно место заузимају малигну болести. Проналажење агенса са потенцијалним антиоксидантним деловањем је од изузетног значаја због евентуалне могућности „хватања“ реактивних кисеоничних врста од стране антиоксиданта. Утврђивање вероватног хепатопротективног и антиинфламаторног деловања екстракта, који је био предмет истраживања у оквиру ове докторске дисертације, недвосмислено представља допринос науци. Постоји велика могућност да поменута деловања воденог екстракта плода *Rumex crispus* потичу од флавоноидног састава самог екстракта. Поред тога, резултати испитивања указују да би поменути екстракт могао деловати прооксидантно на малигну трансформисане ћелије. Даље, тиме би стимулисање продукције реактивних кисеоничних и азотних врста и последично индуковање оксидативног стреса у малигну трансформисаним ћелијама могао бити највероватнији механизам потенцијалног цитотоксичног деловања воденог екстракта плода штавела. Ово истраживање доприноси бољем разумевању настанка и прогресије малигну болести, као и улоге прооксиданата и реактивних кисеоничних врста у евентуално индукованој апоптози или некрози малигну трансформисаних ћелија.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Детаљним увидом Комисија није уочила недостатке који би евентуално утицали на резултате истраживања и умањили вредност докторске дисертације.

**X ПРЕДЛОГ:**

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

На основу позитивних вредновања свих појединачних делова, као и укупне позитивне оцене докторске дисертације, Комисија за оцену докторске дисертације, предлаже Наставно – научном већу Медицинског факултета у Новом Саду и Сенату Универзитета у Новом Саду, да се докторска дисертација кандидата Дуње Јаковљевић, под називом „Биолошко дејство воденог екстракта плода штавеља (*Rumex crispus* L., Polygonaceae)“ прихвати, а кандидату одобри јавна одбрана.

датум: 04.03.2019. године

НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ  
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Проф. др Снежана Ђорђевић

---

Проф. др Велибор Васовић

---

Проф. др Љиља Торовић

---

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.