

ПРИМЉЕНО:		21. 06. 2021	
Својер.	Број	Полар	Вредност
05	2956		

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

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

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 09.06.2021. године, одлуком бр. IV-03-451/16 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Ефекти примене екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на бихевиоралне манифестације неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата код пацова“ кандидата Наталије Арсенијевић, у следећем саставу:

1. Доц. др Драгица Селаковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник;
2. Проф. др Милица Поповић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Болести зуба и ендодонција, члан;
3. Проф. др Гаврило Брајовић, ванредни професор Стоматолошког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Базичне стоматолошке науке, члан.

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

ИЗВЕШТАЈ

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

Докторска дисертација кандидата Наталије Арсенијевић под називом „Ефекти примене екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на бихевиоралне манифестације неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата код пацова“, урађена под менторством проф. др Гвоздена Росића, редовног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, представља оригиналну научну студију која се бави испитивањем утицаја антиоксидантне суплементације екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на бихевиоралне манифестације неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата код пацова.

Композити представљају начешће бирани материјал за надокнаду изгубљеног зубног ткива, међутим широка клиничка примена указла је на могућност стварања секундарног каријеса као начешћег разлога пропадања композитних испуна. Настанак секундарног каријеса се може превенирати обезбеђивањем услова за реминерализацију зубних ткива која непосредно окружују испун, због чега се данас развијају композитни материјали који отпуштају наночестице калцијум фосфата, а које су широко примењене у превентивним, рестауративним и регенеративним третманима у различитим областима медицине.

Иако су се калцијум фосфати дуго сматрали биокompatibilним материјалима, у истраживању на пацовима, интраперитонеална примена нано-хидроксиапатита је узроковала апоптозу ћелија јетре и бубрега, док је у култури глија ћелији нано-хидроксиапатит инхибирао раст уз индукцију апоптозе праћену повећаном продукцијом ROS и смањењем нива SOD. Резултати *in vitro* студије на туморским ћелијама јетре открили су да је нано- β -трикалцијум фосфат проузроковао цитотоксичност повезану са примењеном дозом и временом изложености, док је транспорт наночестица ендоцитозом праћен унутарћелијским повећањем нивоа јона калцијума и фосфата, као и повећаном продукцијом ROS, а апоптоза посредована и спољашњим и унутрашњим апоптостским путевима. Такође, наночестице аморфног калцијум фосфата су изазвале апоптозу ћелија леукемије селективно делујући на G1 фазу ћелијског циклуса, са цитотоксичним ефекатом који је био пропорционалан времену изложености. Са друге стране, према подацима из

литературе, антиоксидативна суплементација природним продуктима (куркумином и хитосаном) може умањити штетне ефекте дејства хроничног уноса нано-калцијум фосфата. Међу природним продуктима са потврђеним антиоксидативним дејством је и екстракт *Filipendule ulmarie* (L.) Maxim., вишегодишње биљке распрострањене у Европи и Азији, који испољава и низ других фармаколошких дејства.

Иако постоје подаци о механизму дејства и дистрибуцији након системске апликације нано-калцијум фосфата, чини се да су њихови токсични ефекти недовољно разјашњени. Поред сазнања да ове честице пролазе крвно-мождану баријеру, дејство наночестица калцијум фосфата на централни нервни систем је непознато. Циљ овог рада је био да се испита потенцијални неуропротективни ефекат екстракта биљке *Filipendule ulmarie* (L.) Maxim. на очекивану неуротоксичност изазвану наночестицама калцијум фосфата.

Резултати ове студије су потврдили да хронична примена наночестица калцијум фосфата изазива значајне промене у понашању. Такође, неуротоксичност је потврђена и променама у маркерима оксидативног стреса и апоптозе, удружених са променама у експресији GABA A рецептора и BDNF. Антиоксидативна суплементација екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. имала је неуропротективни ефекат, умањујући промене настале дејством наночестица калцијум фосфата.

2.2. 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: „nano-calcium phosphates“, „Filipendula ulmaria“, „behavioral tests“, „oxidative stress“, „apoptosis“, „GABA A receptors“, и „BDNF“, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Наталије Арсенијевић под називом „Ефекти примене екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на бихевиоралне манифестације неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата код пацова“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Наталија Арсенијевић је рођена 2.11.1984. године у Крагујевцу, где је завршила Основну школу „Јован Поповић“ и Прву крагујевачку гимназију. Стоматолошки факултет Универзитета у Београду уписује школске 2003/2004. године, а дипломира 5.7.2011. године са просечном оценом 8,62. Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином, уписала је 2011/2012. године. Усмени докторски испит положила је јула 2013. године са оценом 9. Специјалистичке студије из области стоматологије Болести зуба и ендодонција уписала је 20.1.2015. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу и друга је година.

Од 2012. до 2016. године била је запослена на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу као сарадник у настави, а потом и као истраживач сарадник за ужу научну област Болести зуба и ендодонција. Од 2020. године ангажована је као истраживач приправник за ужу научну област Болести зуба и ендодонција. Као клинички лекар била је запослена у Заводу за стоматологију Крагујевац од 2012. до 2018. године.

Аутор је више оригиналних научних радова, међу којима су и два рада чији су резултати уврштени у садржај докторске дисертације.

У истраживању под називом „The Beneficial role of *Filipendula ulmaria* extract in prevention of prodepressant effect and cognitive impairment induced by nanoparticles of calcium phosphates in rats“ циљ је био проценити ефекат антиоксидантне суплементације екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на промене нивоа депресивности и когнитивног оштећења изазваних хроничном применом наночестица хемијски различитих једињења калцијум фосфата код пацова. Главни закључак студије је да примена екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. значајно ублажава бихевиоралне манифестације неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата. Заштитни ефекат испитиваног екстракта, поред утицаја на понашање, огледао се и у антиоксидантвом и антиапоптотском дејству у мозданом ткиву. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M21** (Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:6670135).

Део резултата докторске дисертације представљен је и у истраживању под називом „Does an alteration in nociceptive response to mineral components of dental composites involve changes in oxidative status? A brief report“. Циљ овог истраживања је био да се утврди ефекат антиоксидантне суплементације екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на промене у одговору на болне стимулусе изазване наночестицама калцијум фосфата. Главни закључак студије је да примена екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. ублажава штетно дејство наночестица калцијум фосфата на перцепцију бола, са заштитним дејством које је израженије на периферне у односу на централне механизме ноцицепције. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M51** (Ser J Exp Clin Res., 2020, DOI: 10.2478/sjecr-2020-0050).

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

1. **Arsenijevic N**, Selakovic D, Katanic Stankovic JS, Mihailovic V, Mitrovic S, Milenkovic J, Milanovic P, Vasovic M, Markovic SD, Zivanovic M, Grujic J, Jovicic N, Rosic G. The Beneficial role of *Filipendula ulmaria* extract in prevention of prodepressant effect and cognitive impairment induced by nanoparticles of calcium phosphates in rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:6670135. **M21**
2. **Arsenijevic N**, Milenkovic J, Milanovic P, Arnaut A, Jovanovic M, Velickovic S, Scepanovic R, Selakovic D. Does an alteration in nociceptive response to mineral components of dental composites involve changes in oxidative status? A brief report. *Serbian J. Exp. Clin. Res.*, 2020, DOI: 10.2478/sjecr-2020-0050. **M51**
3. Arsenijevic M, Milovanovic M, Jovanovic S, **Arsenijevic N**, Markovic BS, Gazdic M, Volarevic V. In vitro and in vivo anti-tumor effects of selected platinum(IV) and dinuclear platinum(II) complexes against lung cancer cells. *J Biol Inorg Chem.* 2017;22(6):807-817. **M21**

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

Спроведено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација Наталије Арсенијевић садржи следећа

поглавља: Увод, Циљ истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Написана је на 121 страни и има 55 слика. Поглавље Литература садржи 267 цитираних библиографских јединица из иностраних стручних публикација.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на свеобухватан, јасан и прецизан начин и цитирајући релевантну литературу изложио актуелна сазнања о механизмима токсичног дејства наночестица различитих форми калцијум фосфата, у ткивима бројних органа, након њихове системске примене, укључујући и оксидативно оштећење, односно повећану апоптотску активност. Такође, објашњене су и механизми токсичности наночестица другачијег хемијског састава, уз представљање и бихевиоралних манифестација неуротоксичности истих. Поред тога, презентоване су и основне антиоксидантне карактеристике биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim..

Циљеви истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Кандидат је у свом раду намеравао да испита утицај антиоксидантне суплементације екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на промене у понашању изазване хроничном применом наночестица три различита хемијска једињења калцијум фосфата.

Материјал и методологија рада су детаљно и прецизно формулисани и подударују се са одобреним приликом пријаве тезе. Истраживање је дизајнирано као експериментална студија на анималном моделу *in vivo* и на материјалу анималног порекла *in vitro*.

Истраживање је обухватитло 42 мужјака Wistar albino пацова, старости 10-12 недеља, просечне телесне масе 180-200g, подељених у седам једнаких група. Животиње су третиране нано-калцијум фосфатима (хидроксиапатит – 17.8 mg/kg, трикалцијум фосфат хидрат – 11 mg/kg и аморфни калцијум фосфат – 9.65 mg/kg) самостално, или са екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. у дози од 100 mg/kg. Протоколи су трајали 30 дана. По завршеним протоколима промене у понашању су утврђене применом одговарајућих бихевиоралних тестова, док су након жртвовања, у ткиву мозга одређени маркери оксидативног статуса, апоптозе и експресије GABA A рецептора и BDNF.

Резултати истраживања су систематично приказани и добро документовани сликама и графиконима (укупно 53). Показано је да хронична примена наночестица калцијум фосфата изазива значајне промене у понашању, које су праћене евидентним разликама у дејству различитих форми калцијум фосфата. Такође, неуротоксичност је

потврђена и променама у маркерима оксидативног стреса и апоптозе, удружених са променама у експресији GABA A рецептора и BDNF. Антиоксидативна суплементација екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. имала је заштитно дејство на испитиване параметре, испољавајући неуропротективни ефекат кроз минимизирање промена насталих дејством наночестица калцијум фосфата.

У поглављу Дискусија детаљно су објашњени резултати истраживања, тако што је појединачно објашњен утицај наночестица калцијум фосфата на промене у понашању, маркере оксидативног стреса и апоптозе, као и на промене експресије GABA A рецептора и BDNF у ткиву хипокампуса и префронталног кортекса пацова. Такође, детаљно је анализиран и претпостављени заштитни механизам при симултаној примени екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., у оштећењима изазваним наночестицама примењених калцијум фосфата, који укључује смањење оксидативног оштећења и апоптозе, ублажавање промена у експресији GABA A рецептора и BDNF у мозгу пацова, као и ублажавање бихевиоралних манифестација неуротоксичности.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата Наталије Арсенијевић под називом „Ефекти примене екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на бихевиоралне манифестације неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата код пацова“, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Резултати овог истраживања су омогућили дефинисање бихевиоралних ефеката хроничне администрације наночестица калцијум фосфата, као и утицај овог третмана удруженог са третманом екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. код пацова. Такође, утврђене су промене нивоа оксидативног стреса и апоптозе током примене нано-калцијум фосфата, са или без симултане администрације екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. Показано је да су промене у понашању пацова третираних нано-калцијум фосфатима, самостално или заједно са третманом екстрактом биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., значајно повезане са променама маркера оксидативног стреса и апоптозе, као и експресије GABA A рецептора и BDNF у možданом ткиву пацова. Резултати ове студије указују на значај антиоксидантне суплементације у третману

бихевиоралних манифестација неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Резултати ове студије могу користити у превенцији различитих врста токсичности, укључујући и неуротоксичност, које које могу бити индуковане применом нано-калцијум фосфата у стоматолошкој пракси.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на SCI листи (категија M21) као и у националном часопису категорије M51:

1. **Arsenijevic N**, Selakovic D, Katanic Stankovic JS, Mihailovic V, Mitrovic S, Milenkovic J, Milanovic P, Vasovic M, Markovic SD, Zivanovic M, Grujic J, Jovicic N, Rosic G. The beneficial role of Filipendula ulmaria extract in prevention of prodepressant effect and cognitive impairment induced by nanoparticles of calcium phosphates in rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2021;2021:6670135. **M21**
2. **Arsenijevic N**, Milenkovic J, Milanovic P, Arnaut A, Jovanovic M, Velickovic S, Scepanovic R, Selakovic D. Does an alteration in nociceptive response to mineral components of dental composites involve changes in oxidative status? A brief report. *Serbian J. Exp. Clin. Res.*, 2020, DOI: 10.2478/sjecr-2020-0050. **M51**

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Наталије Арсенијевић под називом „Ефекти примене екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на бихевиоралне манифестације неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата код пацова“ сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Наталије Арсенијевић, под менторством проф. др Гвоздена Росића, представља оригинални научни допринос у испитивању неуропротективног дејства екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Ефекти примене екстракта биљке *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim. на бихевиоралне манифестације неуротоксичности изазване наночестицама калцијум фосфата код пацова“, кандидата Наталије Арсенијевић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Доц. др Драгица Селаковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник



Проф. др Милица Поповић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Болести зуба и ендодонција, члан



Проф. др Гаврило Брајовић, ванредни професор Стоматолошког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Базичне стоматолошке науке, члан



У Крагујевцу, 11.06.2021. године