НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА

УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На седници **Наставно-научног већа** Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 28. 5. 2025. године, број 21/V-3/3-СК, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

„Ефекат кафеинске киселине на функцију ћелија екстравилусног трофобласта првог триместра трудноће и малигно трансформисаног трофобласта хориокарцинома *in vitro*"

кандидаткиње др Сање Костић, запослене на Клиници за гинекологију и акушерство Универзитетског Клиничког центра Србије.

Име и презиме ментора	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Светлана Врзић Петронијевић	Редовни професор	Гинекологија и акушерство	МФУБ
др Милица Јовановић Кривокућа	Научни саветник	Биологија репродукције	ИНЕП

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је усаставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Драган Ђурић	Редовни професор	Медицинска физиологија	МФУБ
др Саша Кадија	Редовни професор	Гинекологија и акушерство	МФУБ
др Ђорђе Илић	Ванредни професор	Гинекологија и акушерство	МФ Нови Сад

На основу анализе приложене докторске дисертације, комисија за оцену завршене докторске дисертације једногласно подноси Научном већу Медицнског факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

А) Приказ садржаја докторке дисертације

Докторска дисертација др Сање Костић написана је на укупно 95 страна и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви истраживања, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. Дисертација садржи 33 слике. Докторска дисертација садржи још: садржај, сажетак на српском и енглеском језику, податке о комисији, писмо захвалности, биографију докторанда, списак публикованих резултата који су произашли из тезе, као и пратеће изјаве: Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

У **Уводу** је описана грађа и функција постељице, као највећег органа који се формира у трудноћи и од кога ће зависити њен читав ток. Детаљно је описан процес развоја плаценте, од имплантације бластоцисте, преко формирања хорионских ресица до успостављања дефинитивне плаценте хемохоријалног типа. Посебно су наглашени процеси миграције и инвазије трофобласта, ремоделовања спиралних артерија мајке, и њихови медијатори, као основни предуслови за успостављање и одржавање здраве трудноће. Истакнута су патолошка стања у трудноћи која настају нарушавањем ових строго контролисаних процеса, као што су спонтани побачај, преeклампсија, интраутерини застој у расту плода, интраутерина смрт плода, урасла постељица и хориокарцином. Такође, посвећена је пажња оксидативном стресу и инфламацији, који доприносе овим стањима. Анализирана је стуктура и фармакокинетика кафеинске киселине, антиоксиданса из групе полифенола који настаје као секундарни продукт метаболизма различитог воћа, поврћа и других природних производа. Указано је на заступљеност ове супстанце у исхрани, као и на њен биолошки значај, у смислу антимикробног, антиоксидативног, антиинфламаторног и антиканцерског дејства.

Циљеви истраживања ове докторске дисертације били су усмерени на испитивање утицаја низа концентрација кафеинске киселине на преживљавање, пролиферацију и ћелијски циклус HTR-8/SVneo ћелија. Испитиван је и ефекат кафеинске киселине на вијабилност ћелија, активност екстрацелуларне лактат дехидрогеназе (LDH) и оштећење ДНК у условима повишеног оксидативног стреса; затим на параметре оксидативног стреса – ниво нитрита, карбонилних група (маркера оксидативног оштећења протеина), и малондиалдехида (MDA) (маркера липидне пероксидације), као и на активност антиоксидативног ензима каталазе (CAT) и ниво редукованог глутатиона (GSH). Такође је истражен утицај кафеинске киселине на трофобластна функционална својства значајна за процес плацентације - адхезију, миграцију и инвазију HTR-8/SVneo ћелија, и на експресију маркера инвазивног фенотипа трофобласта – матриксних металопротеиназа-2 и -9 (MMP) и интегрина α1, α5, и β1 на нивоу иРНК и протеина. Испитиван је и антиинфламаторни потенцијал кафеинске киселине употребом *in vitro* модела трофобластне инфекције праћењем продукције проинфламаторних цитокина - интерлеукина-1β, -6, -8 и фактора инхибиције миграције макрофага (MIF). Поред тога, циљ докторске дисертације био је и да се испита потенцијално антиканцерско дејство кафеинске киселине испитивањем утицаја различитих примењених концентрација на преживљавање, пролиферацију, ћелијски циклус и инвазију малигно трансформисаног трофобласта - JAR ћелијске линије.

У поглављу **Материјал и методе** детаљно су изложени експериментални дизајн и примењене савремене методе. У истраживању су коришћене две комерцијално доступне ћелијске линије. HTR-8/Svneo ћелијска линија (добијена љубазношћу др Charles H. Graham-a, Универзитет Queen's, Кингстон, Онтарио, Канада) која потиче од примарних екстравилусних трофобластних ћелија из првог триместра трудноће, које су имортализоване трансфекцијом SV40 T антигеном. HTR-8/Svneo ћелије задржавају фенотипске особине ћелија из којих су изведене, што их чини погодним моделом за експериментална истраживања. Ћелије су култивисане у влажној средини у инкубатору са 5% CO2 на 37◦C у RPMI 1640 допуњеном са 10% инактивираног феталног телећег серума и 1% раствора антибиотика и антимикотика. Такође је коришћена ћелијска линија хориокарцинома JAR (набављена од ATCC, Манасас, САД), размножена у медијуму RPMI 1640 са додатком 10% феталног телећег серума и 1% раствора антибиотика/антимикотика.

Обе ћелијске линије третиране су растућим концентрацијама кафеинске киселине.

Кафеинска киселина је растворена у диметил сулфоксиду (DMSO) и припремљен је 100 mM основни раствор. Коначне концентрације кафеинске киселине од 1, 10 и 100 μM за експерименте припремљене су у медијуму RPMI 1640 са додатком 10% феталног телећег серума, а концентрација DMSO није прелазила 0,1%. Контролна група третирана је само са DMSO.

За процену ћелијске вијабилност и броја адхерентних ћелија коришћени су MTT тест и "*crystal violet*" тест. Ћелијски циклус анализиран је бојењем ћелија хипотоним раствором пропидијум јодида и методом проточне цитофлуориметрије. У циљу процене ефекта кафеинске киселине на HTR-8/Svneo ћелије у условима оскидативног стреса индукованог водоник пероксидом испитана је вијабилност ћелија, активност екстрацелуларне LDH, концентрација интраћелијског GSH и активност антиоксидативног ензима CAT. Такође је одређиван ниво оксидације липида мерењем концентрације маркера липидне пероксидације – MDA, степен оксидације протеина мерењем концентрације нитрита и карбонилних група, док је степен оштећења ДНК процењен методом алкалне електрофорезе појединачних ћелија (*single cell gel electrophoresis* - SCGE), односно применом комет есеја.

Испитиван је ефекат кафеинске киселине на функционална својства значајна за процес плацентације: адхезију за пластику, Matrigel, колаген, затим миграцију тестом „зарастања рана" и инвазију, тестом инвазије сфероида. Анализирани су и медијатори ових процеса, експресија интегрина α1, α5, і β1 на нивоу иРНК и протеина, као и експресија и желатинолитичка активност MMP.

Употребом *in vitro* модела трофобластне инфекције праћена је експресија гена за проинфламаторне цитокине (*IL1B, IL6, CXCL8, MIF).*

Испитивања на JAR ћелијској линији обухватила су тестове вијабилноти, адхетенстних ћелија, ћелијског циклуса, док је инвазија анализирана Transwell Matrigel тестом.

Сви експериментални поступци изведени су у складу са директивом Европског парламента (2010/63/EU) и одобрени од стране Етичке комисије Медицинског факултета Универзитета у Београду (бр. 1322/IV-1 од 18. 4. 2022). Статистичке анализе су вршене помоћу статистичког програма GraphPad Prism 6.0, а статистички значајна разлика утврђена је при $p<0,05$.

У поглављу **резултати** детаљно су описани и јасно представљени сви добијени резултати.

Дискусија је написана јасно и прегледно, уз приказ података других истраживања са упоредним прегледом добијених резултата докторске дисертације.

Закључци сажето приказују најважније налазе који су проистекли из резултата рада. Коришћена **литература** садржи списак од 236 референци.

Б) Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма *iThenticate* којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације "**ЕФЕКАТ КАФЕИНСКЕ КИСЕЛИНЕ НА ФУНКЦИЈУ ЋЕЛИЈА ЕКСТРАВИЛУСНОГ ТРОФОБЛАСТА ПРВОГ ТРИМЕСТРА ТРУДНОЋЕ И МАЛИГНО ТРАНСФОРМИСАНОГ ТРОФОБЛАСТА ХОРИОКАРЦИНОМА *IN VITRO*"**, ауторке Сање Костић, констатовано је да подударност текста износи **20%**. Овај степен подударности последица је претежно назива коришћених супстанци и опреме, описа стандардних

процедура извођења експеримената, коришћења идентичних секвенци прајмера за циљне гене, који су стандардизовани, стручних термина на енглеском језику, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из његове дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника. На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, извештај указује на оригиналност докторске дисертације.

Ц) Кратак опис постигнутих резултата

Ова студија је показала да 100 μM кафеинске киселине има позитиван ефекат на преживљавање HTR-8/Svneo ћелијске линије, умереним повећањем процента ћелија у G2/M фази, док у исто време смањује проценат хиподиплоидних ћелија. Концентрације кафеинске киселине од 10 μM и 100 μM имају антигенотоксични ефекат у HTR-8/Svneo ћелијама, смањењем оштећења ДНК у условима оксидативног стреса.

Кафеинска киселина такође испољава цитопротективно дејство, повећањем вијабилности HTR-8/Svneo ћелија у условима оксидативног стреса (100 μM) и смањењем екстрацелуларне активности LDH (10 μM и 100 μM).

Показано је и да кафеинска киселина смањује оксидативно оштећење протеина - смањена концентрација карбонилних група (10 μM), и липида – смањена концентрација MDA (10 μM и 100 μM). Један од механизама антиоксидативног деловања кафеинске киселине је повећање концентрације GSH (10 μM и 100 μM).

Кафеинска киселина такође утиче на функционална својства трофобласта, значајна за процес плацентације. У концентрацији од 100 μM смањује адхезију HTR-8/Svneo ћелија за пластичну подлогу. Дозе од 10 μM и 100 μM повећавају миграцију HTR-8/Svneo ћелија, значајније у нижој концентрацији, док 10 μM кафеинске киселине повећава инвазију ових ћелија. Промиграторно и проинвазивно дејство, између осталог, кафеинска киселина испољава променом експресије медијатора ових процеса, интегрина и матриксних металопротеиназа (MMP-2 и MMP-9). Концентрација од 10 μM повећава експресију α1 субјединице интегрина HTR-8/Svneo ћелија на нивоу иРНК и протеина. Доза од 100 μM стимулише експресију MMP-2 и MMP-9 на нивоу иРНК, као и ниво секретоване MMP-9.

У условима инфекције 100 μM кафеинске киселине има антиинфламаторни ефекат тако што смањује експресију MIF, проинфламаторног цитокина.

Кафеинска киселина (500 μM) смањује вијабилност и број адхерентних ћелија JAR ћелијске линије хориокарцинома. Мање концентрације кафеинске киселине (10 μM и 100 μM) утичу на различите фазе ћелијског циклуса JAR ћелија, и имају потенцијално проапоптотско дејство. У овој студији кафеинска киселина (100 μM) је повећала инвазију JAR ћелија.

Д) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

На основу добијених података и упоредне анализе са релевантном литературом, може се закључити да кафеинска киселина (КК) испољава повољне биолошке ефекте у ћелијама екстравилусног трофобласта првог триместра трудноће и малигно трансформисаног трофобласта хориокарцинома *in vitro*, што је компатибилно са резултатима добијеним у другим системима органа. Ова докторска дисертација и радови који су из ње произашли су први показали утицај и неке од механизама деловања кафеинске киселине на HTR-8/Svneo и JAR ћелијске линије.

С обзиром да у високим дозама и у одређеним условима КК може имати прооксидативни потенцијал, при чему индукује липидну пероксидацију и оштећење ДНК (Zheng и сар., 2008), било је важно испитати њен ефекат на вијабилност HTR-8/Svneo ћелија. Ова студија је показала да КК у дозама од 1 μM, 10 μM и 100 μM не мења ћелијску вијабилност и број адхерентних ћелија после 24 сата.

При вишој концентрацији од 100 μM, КК је благо повећала проценат ћелија у G2/M фази ћелијског циклуса, док је смањила проценат хиподиплоидних ћелија. Иако примарне екстравилусне ћелије нису пролиферативне, овај резултат може указивати на позитиван ефекат КК на преживљавање трофобластних ћелија. Са друге стране, ниже концентрације КК нису имале утицај на вијабилност ћелија HTR-8/Svneo нити на ћелијски циклус, што је у складу са претходним истраживањима на другим типовима ћелија (Dziedzic и сар., 2017). Процена генотоксичности представља кључни корак у евалуацији безбедности свих фитохемикалија. Резултати из ове докторске дисертације показују да концентрације КК од 10 и 100 μM не изазивају оштећење ДНК, што је у складу са резултатима (Hernandes и сар., 2020). Штавише, утврђено је да КК смањује број ћелија са оштећењем ДНК изазваним H_2O_2 у поређењу са ћелијама изложеним само H_2O_2. Такође, КК је испољила цитопротективни ефекат против H_2O_2 и повећала вијабилност ћелија при вишој концентрацији (100 μM). Антигенотоксични ефекти КК против оштећења ДНК изазваног H_2O_2 раније су примећени и у људским периферним мононуклеарним ћелијама, HL-60 ћелијама и људским јетреним L-02 ћелијама (Fabiani и сар., 2008; Li и сар., 2015).

Заштитни ефекти КК примећени у овом истраживању делимично су посредовани уклањањем *reactive oxygen species* (ROS), с обзиром на то да је третман КК значајно смањио формирање продуката оксидације протеина и липида, као што су карбонилне групе и MDA. Ово је од посебног значаја, с обзиром да је акумулација протеинских карбонилних група повезана са митохондријалном дисфункцијом, бројним хроничним стањима и болестима везаним за старење (Berlett и сар., 1997).

КК је такође утицала на активност CAT након изложености H_2O_2. Ово је у складу са студијом спроведеном на неуронским ћелијама, која је показала да је претходни третман КК (100 μM) заштитио ћелије од оксидативног оштећења изазваног H_2O_2 значајним смањењем нивоа ROS и липидне пероксидације, као и модулацијом активности CAT (Ayna и сар., 2021).

У експериментима из ове докторске дисертације заштитни ефекат КК против ћелијске смрти изазване ROS је такође процењен индиректно, анализом нарушавања интегритета ћелијских мембрана HTR-8/Svneo ћелија кроз одређивање екстрацелуларне LDH. Ниво цитотоксичности изазване H_2O_2, рефлектован цурењем овог ензима, смањен је претходним третманом КК, што потврђује заштитни ефекат овог полифенола на интегритет ћелијске мембране. Овај налаз је у складу са студијом Liu и сар., 2021. Претходни третман КК значајно је повећао нивое GSH у условима оксидативног стреса изазваног H_2O_2. Занимљиво је да је нижа доза (10 μM) имала израженији ефекат, што је компатибилно са другим истраживањима која су показала да ниже дозе КК у већој мери повећавају садржај GSH, као што је примећено код оштећења јетре изазваног ацетаминофеном (Pang и сар., 2016). Познато је да антиапоптотски протеин Bcl-2 регулише садржај GSH у различитим ћелијским компартманима, при чему његова прекомерна експресија повећава нивое GSH и инхибира ћелијску смрт посредовану митохондријама (Ellerby и сар., 1996; Voehringer и сар., 2000), а Liu и сар., 2020. су потврдили да КК делује путем овог механизма.

Претходна истраживања су показала да одређени полифеноли, укључујући КК и њене деривате, могу утицати на међусобну интеракцију ћелија и екстрацелуларног матрикса (ЕЦМ) модулацијом различитих типова адхезивних молекула и

протеолитичких ензима (Nasr Bouzaiene и сар., 2015; Chung и сар., 2004). У циљу процене утицаја КК на способност адхезије трофобласта, спроведен је функционални тест везивања ћелија за пластичну подлогу, као и за подлоге које имитирају особине ЕЦМ. Познато је да КК унакрсно везује колагенска влакна, као што је показано на ацелуларним ЕЦМ и биоматеријалима на бази колагена, а што модификује његову стабилност и отпорност на колагеназе (Ji и сар., 2023; Zhang и сар., 2010; Philp и сар., 2018). Како промене у својствима ЕЦМ утичу на функцију ћелија (Haugh и сар., 2011), а с обзиром да је фокус овог истраживања била процена директних ефеката КК на функционалне особине трофобласта, КК је уклоњена пре коришћења третираних ћелија у тесту адхезије. Резултати су показали да третман КК није утицао на адхезију HTR-8/Svneo ћелија на Матригел нити колаген. Међутим, третман вишом концентрацијом КК (100 μM) показао је инхибиторни ефекат на адхезију ћелија за пластичну површину, што указује на модификацију неспецифичних интеракција између ћелија и пластике. Подаци из литературе показују да КК интерагује са протеинима утичући на њихову структуру и функцију (Precupas и сар., 2017; Gao и сар., 2000). Стога, могуће је да је КК утицала на доступност и/или структуру молекула на површини ћелија који учествују у њиховој адхезији за пластичну површину.

Поред тога, резултати су показали да је третман са 10 μM КК стимулисао миграцију и инвазију HTR-8/Svneo ћелија. Излагање вишој концентрацији КК (100 μM) такође је стимулисало миграцију, али у мањој мери у поређењу са 10 μM КК. Овај бифазни ефекат дозе и одговора, где ниске дозе имају стимулативни, а високе инхибиторни ефекат, познат као хормеза, претходно је описан код полифенола (Murakami и сар., 2022; Lin и сар., 2010). Резултати презентовани у овој дисертацији су показали да је 10 μM КК умерено стимулисало експресију α1 субјединице у третираним HTR-8/Svneo ћелијама, како на нивоу иРНК, тако и на нивоу протеина, док експресија α5 и β1 интегринских субјединица није била промењена. Различите студије указале су на повезаност повећане експресије α1 интегринске субјединице са повећаним миграционим и инвазивним капацитетом трофобластних ћелија (Pirković и сар., 2023; Zheng и сар., 2022; Jovanović Krivokuća и сар., 2015). На основу тога, можемо закључити да стимулација миграције и инвазије HTR-8/Svneo ћелија изазвана КК може бити бар делимично последица повећане експресије α1 субјединице.

Експресија иРНК за MMP-2 и MMP-9, као и ниво секретоване MMP-9 били су повећани након третмана ћелија вишом концентрацијом КК (100 μM). Третман КК није значајно утицао на нивое секретоване MMP-2, иако се могла приметити дозно-зависна тенденција пораста. Иако је виша концентрација КК показала умерен стимулативни ефекат на експресију и секрецију MMP-9, она није утицала на инвазивни капацитет HTR-8/Svneo ћелија, што указује на улогу додатних регулаторних механизама. Други феноли присутни у исхрани такође су испољили проинвазивне и промиграторне ефекте на HTR-8/Svneo ћелије (Zhu и сар., 2012, Ebegboni и сар., 2019).

Имајући у виду значај проинфламаторних цитокина у раним фазама трудноће, као и присуство инфекције током читаве трудноће, испитиван је утицај КК на експресију проинфламаторних цитокина у HTR-8/Svneo ћелијама. Смањена експресија фактора инхибиције миграције макрофага (MIF) након третмана КК (100 μM) у условима инфекције био је најзначајнији резултат, док се његова експресија није променила додатком КК без липополисахарида. MIF игра кључну улогу у регулацији урођеног и стеченог имунитета (Jovanović Krivokuća и сар., 2021). Висок ниво овог цитокина може изазвати оштећење ткива, хроничну инфламацију и погоршати прогнозу. Такође је показано да MIF може бити индикатор лошег исхода код септичних пацијената и потенцијални биомаркер сепсе (Breidung и сар., 2023). Стога, можемо сматрати да је КК имала повољан утицај смањивши експресију MIF.

Испитивања на JAR ћелијској линији су показала да концентрација КК од 500 μM значајно смањује њихову вијабилност, што је потврђено и смањеним бројем адхерентних ћелија. Иста концентрација није утицала на HTR-8/Svneo ћелије. Могуће је да КК показује различите ефекте на нормалним и канцерогеним ћелија, при чему су малигне ћелије осетљивије на КК, на шта указују подаци из литературе (Secme и сар., 2023; Pelinson и сар., 2019; Kabała-Dzik и сар., 2018). Уочене промене на нивоу ћелијског циклуса указују на то да би КК у овим концентрацијама могла да има проапоптотке активности КК – између G1 и S фазе у концентрацији од 10 μM, и између S и G2 фазе у концентрацији од 100 μM. Овакав резултат би потенцијално могао имати значај у терапијском смислу. Слично деловање КК је испољила у канцерским ћелијама других органа *in vitro* (Kabała-Dzik и сар., 2017; Dziedzic и сар., 2017). Супротно резултатима из других студија 100 μM КК је повећала инвазију JAR ћелија. Могуће је да је наш резултат последица одређених карактеристика хориокарцинома, али и карактеристика саме ћелијске линије која је коришћена у овом експерименту. Наиме, ћелије хориокарцинома имају повећану експресију MMP-1 и MMP-2, док је експресија MMP-9 и ткивног инхибитора матрикс металопротеиназа (TIMP-1) значајно смањена (Vegh и сар., 1999). С обзиром на то да подаци из литературе претежно указују на инхибиторни ефекат слободне форме КК на MMP-9, могуће је да су други механизми укључени у регулацију активности хориокарциномских ћелија. Такође, важно је напоменути да се ћелијске линије хориокарцинома међусобно разликују по алфа субјединицама интегрина које експримирају. JAR ћелије доминантно експримирају α1, α5 и α6, BeWo α2, α3, α5, α6 (Maquoi и сар., 1997), а JEG-3 ћелије α3, α5, α6 субјединице (Wang и сар., 2017). Како је у овој студији показано да КК утиче на α1 субјединицу, није искључена могућност да би резултати на другим ћелијским линијама у погледу инвазије били другачији.

Е) Објављени радови који чине део докторске дисертације

1. Kostić S, Vilotić A, Pirković A, Dekanski D, Borozan S, Nacka-Aleksić M, Vrzić-Petronijević S, Jovanović Krivokuća M. Caffeic acid protects human trophoblast HTR-8/SVneo cells from H2O2-induced oxidative stress and genotoxicity. Food Chem Toxicol. 2022;163:112993. doi: 10.1016/j.fct.2022.112993. **(M21a, IF 6,025)**

2. Vilotić A*, Kostić S*, Pirković A, Bojić-Trbojević Ž, Dekanski D, Vrzić-Petronijević S, Jovanović Krivokuća M. Caffeic acid stimulates migration and invasion of human trophoblast HTR-8/SVneo cells. Food Funct. 2025;16(4):1603-1614. doi: 10.1039/d4fo03699a. (*Ovi autori su podjednako doprineli radu). **(M21, IF 6,3)**

Прегледни рад у часопису Медицински подмладак:

1. Kostić S, Vrzić Petronijević S, Jovanović Krivokuća M. Trophoblast migration and invasion - the key factors for a successful pregnancy. Medicinski podmladak. 2028;79(1). doi: 10.5937/mp75-46356.

Ф) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација „Ефекат кафеинске киселине на функцију ћелија екстравилусног трофобласта првог триместра трудноће и малигно трансформисаног трофобласта хориокарцинома *in vitro*" др Сање Костић представља значајан научни допринос у области репродуктивне биологије и перинатологије.

Приказани резултати први пут на систематски начин анализирају утицај и механизме деловања кафеинске киселине, полифенола присутног у свакодневној исхрани трудница, на ћелије трофобласта првог триместра трудноће. Испитивање утицаја овог природног антиоксиданса на процесе неопходне за оптималну имплантацију и плацентацију је од изузетне важности. Имајући у виду да унете количине кроз исхрану у раној трудноћи, као и могућа суплементација могу имати повољна, али и штетна дејства, било је важно утврдити ефекте растућих концентрација кафеинске киселине на различита својства HTR-8/Svneo ћелија. Доказано је да она нема цитотоксично дејство на ћелије трофобласта, као и да има антиоксидативна својства и повољан утицај на функционалне карактеристике HTR-8/Svneo ћелија. Ово указује на то да кафеинска киселина има велики потенцијал за коришћење у трудноћи, као суплемент или терапијско средство у патолошким стањима повезаним са оксидативним стресом и смањеном инвазивношћу трофобласта, као што су понављани побачаји, прееклампсија и интраутерини застој у расту плода. Она би се такође могла користити за лечење патологије других система органа у трудноћи, што би захтевало потврду у *in vivo* испитивањима. Утицај кафеинске киселине на вијабилност и ћелијски циклус хориокарцимских JAR ћелија указују на потенцијалну примени кафеинске киселине у терапијском смислу. Иако се овај тип малигнитета доста успечно лечи класичним цитостатицима, потребно је истражити нове неинвазивне терапијске приступе који би укључили природна једињења са минимално штетних ефеката по здравље пацијента.

Стога, овде приказани резултати, поред значаја за научну заједницу, могу имати и ширу клиничку примену.кроз даљу транслациону анализу.

Ова докторска дисертација је урађена према свим принципима научног истраживања. Циљеви су били прецизно дефинисани, научни приступ је био оригиналан и пажљиво изабран, а методологија рада је била савремена. Резултати су прегледно и систематично приказани и дискутовани, а из њих су изведени одговарајући закључци.

На основу свега наведеног, и имајући у виду досадашњи научни рад кандидата, комисија предлаже Научном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију др Сање Костић и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду,

27. 10. 2025.

Чланови Комисије:

Проф. др Драган Ђурић

_____

Проф. др Саша Кадија

_____

Проф. др Ђорђе Илић

_____

Ментори:

Проф. др Светлана Врзић Петронијевић

_____

Др Милица Јовановић Кривокућа

_____