

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМАЉЕНЕ	30.05.19
Ориг.	
05	6923/4-4

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-385/27 од 14.05.2019. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Дејана Симића** под називом:

**„Испитивање цитотоксичности комплекса паладијума(II) са дериватима тиазола као лигандима на ћелијама тумора простате *in vitro*“**

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. **Проф. др Слободан Новокмет**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска биотехнологија*, председник;
2. **Проф. др Марија Миловановић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија*, члан;
3. **Проф. др Наташа Петронијевић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Медицинска и клиничка биохемија*, члан;
4. **Проф. др Берислав Веклић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, члан,
5. **Доц. др Ивана Николић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Биохемија*, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

## ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **Дејан Симић** испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

### 2.1. Кратка биографија кандидата

Дејан Симић је рођен 27.04.1975. године у Београду. У мају 1992. године је дипломирао на Медицинском факултету Универзитета у Београду са просечном оценом 9,03. У периоду од 2007. до 2012. године завршава специјалистичке студије из урологије на Војномедицинској академији у Београду. Од 2012. године уписује докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Београду. Члан је више струковних удружења и похађао је више стручних едукација.

### 2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

**Наслов:** „Испитивање цитотоксичности комплекса паладијума(II) са дериватима тиазола као лигандима на ћелијама тумора простате *in vitro*“

**Предмет:** Испитивање цитотоксичности комплекса паладијума(II) са дериватима тиазола као лигандима на ћелијама тумора простате.

**Хипотезе:**

1. Новосинтетисани комплекси паладијума (C1-C5) показују снажан цитотоксични ефекат на туморске ћелије, а знатно слабији цитотоксични ефекат испољавају на хумане фибробласте.
2. Наведене супстанце индукују апоптозу туморских ћелија, повећавајући релативни однос *Bax/Bcl-2*, што доводи до транслокације цитохрома c из митохондрија у цитоплазму и активације *Bax*-а и каспазе-3.

### 2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Дејан Симић, је објавио 1 рад у целости у часопису категорије М51, у коме је први аутор, чиме је стакао услов за пријаву теме докторске дисертације.

1. Simic D, Spasic A, Jovanovic M, Maric P, Milosevic R, Srejovic I. The phosphodiesterase-5 inhibitors and prostate cancer – what we rely know about it? Ser J Exp Clin Res. 2019; doi: 10.1515/SJECR-2017-0073. M51

#### 2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Инциденција карцинома простате је у константном порасту, услед чега карцином простате представља једну од најчешће постављаних дијагноза малигнух тумора. Карцином простате је главни узрок морталитета код мушкараца, сваке године дијагностикован је код 1,6 милиона људи, а чак 366.000 смртних исхода је узроковано овом болешћу. У истраживањима се наводе различити фактори који повећавају ризик од настајања карцинома простате, попут: старења, породичне историје болести, недостатка витамина D, хипертензије, прекомерног уноса црвеног меса исхраном, конзумирања дувана.

Цисплатина (cisplatin, cisplatinum или cis-диамминдихлороплатина(II)) је метално координативно једињење, и користи се у терапији различитих врста малигнитета. Међутим, приликом дуготрајне примене цисплатине настаје велики број нежељених ефеката, попут нефротоксичности, мијелотоксичности, хепатотоксичности и кардиотоксичности.

Из тог разлога, постоји континуирана тежња за синтезом једињења која у својој структури садрже метал и имају слични или снажнији антитуморски потенцијал, као и већу селективност односно знатно слабији цитотоксични ефекат према здравим ћелијама.

#### 2.5. Значај и циљ истраживања

Имајући у виду значај малигнух болести, па и карцинома простате, у савременом свету, постоји стална тежња ка развоју нових хемотерапеутика. Значај истраживања се огледа у могућностима развоја нових хемотерапијских агенаса са већим антитуморским потенцијалом а мањим нежељеним ефектима.

Циљеви овог истраживања су:

1. Испитивање потенцијалне цитотоксичности цисплатине и новосинтетисаних комплекса паладијума *Pd(II)* са следећим лигандима:
  - 1) 2-амино-4-(3,4 дифлуорофенил)тиазол (у даљем тексту: комплекс *CI*)

- 2) 2-амино-4-(2,4-дифлуорофенил)тиазол (у даљем тексту: комплекс C2)
- 3) 2-амино-5-метил-4-фенилтиазол (у даљем тексту: комплекс C3)
- 4) 2-амино-4-фенилтиазол (у даљем тексту: комплекс C4)
- 5) 2-амино-4-(4-хлорфенил)тиазол (у даљем тексту: комплекс C5)

на следеће ћелијске линије:

- 1) *DU-145*-ћелијска линија карцинома простате
  - 2) *PC-3*-ћелијска линија карцинома простате
  - 3) *MRC5*-ћелијска линија фибробласти
2. Одредити релативни однос некротичне и апоптогске смрти туморских ћелија изазване испитиваним супстанцама.
  3. Утврдити утицај испитиваних супстанци на релативни однос проапоптогичног *Bax* и антиапоптогичног *Bcl-2* протеина.
  4. Одредити ефекат испитиваних супстанци на локализацију цитохрома *c* и активацију *Bax*-а и каспазе-3.

## 2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

У истраживању антиканцерогених агенаса који у својој структури садрже метале који нису платина, комплекси паладијума највише обећавају, показујући снажан антитуморски и антимикробни ефекат. Наиме, истраживања су показала да је серија новосинтетисаних *Pd(II)* комплекса индуковала снажан цитотоксични ефекат на ћелијске линије хуманог карцинома дојке *MCF7* и *MDA-MB-231*, што је комплексе квалификовало за даље *in vivo* истраживање. Затим, новосинтетисани *Pd(II)* комплекси су испољили знатно снажнији цитотоксични ефекат од цисплатине на хумане и мишије леукемијске ћелијске линије, *L1210* и *K562*. Поред тога, испитивана је и серија новосинтетисаних *Pd(II)* комплекса на шест различитих ћелијских линија карцинома простате. Показано је да новосинтетисани *Pd(II)* комплекси статистички значајно смањују вијабилност свих шест ћелијских линија. Затим, у *in vitro* истраживањима испитиван је тип ћелијске смрти након третмана новосинтетисаним *Pd(II)* комплексима. Новосинтетисани комплекси *Pd(II)* индукују процес апоптозе хуманих леукемијских ћелија *HL-60* и *K562*, активацијом унутрашњег митохондријалног пута, преко

каспазе 3. Такође, Јоксимовић и сарданици су у свом истраживању утврдили да новосинтетисани комплекси *Pd(II)* статистички значајно смањују вијабилност хуманих ћелијских линија карцинома грлића материце *HeLa* и дојке *MDA-MB-231*, индукујући процес апоптозе и заустављајући ћелијски циклус.

На основу наведених чињеница, претпоставка је да примена новосинтетисаних комплекса паладијума *Pd(II)* може статистички значајно смањити вијабилност туморских ћелија карцинома простате индукцијом процеса апоптозе. Хипотеза ће се тестирати кроз серију *in vitro* експеримената, у складу са наведеним циљевима.

## 2.7. Методе истраживања

### 2.7.1. Врста студије

Студија је дизајнирана као експериментална студија на материјалу хуманог порекла *in vitro*. За истраживање ће се користити две туморске ћелијске линије карцинома простате *DU-145* и *PC-3* и као контрола фибробласти (*MRC-5*) на којима ће бити испитивани новосинтетисани комплекси паладијума.

### 2.7.2. Популација која се истражује

- 1) *DU-145*-ћелијска линија карцинома простате
- 2) *PC-3*-ћелијска линија карцинома простате
- 3) *MRC5*- ћелијска линија фибробласти

### 2.7.3. Варијабле

Независне варијабле студије (узрок) представљаће примењени комплекси паладијума, а зависне варијабле (исход), представљаће измерене вредности параметара вијабилности и апоптозе туморских ћелија. Испитивања ће се вршити у лабораторијама Института факултета медицинских наука у Крагујевцу.

У свим узорцима који буду укључени у студију одређиваће се вијабилност ћелија 24, 48 и 72 часа након третмана различитим концентрацијама испитиваних комплекса *Pd(II)* (0,3 до 100 $\mu$ M) у односу на нетретране ћелије применом МТТ теста, релативни однос некротичне и апоптотске смрти туморских ћелија изазване испитиваним комплексима испитаће се методом проточне цитометрије ћелија бојених Annexin-ом V и

7-аминоактиномицином D. Такође, проточном цитометријом и бојењем специфичним антителима за *Bax*, *Bcl-2*, цитохром c и активну каспазу-3 ћемо одредити релативни однос проапоптогичног *Bax* и антиапоптогичног *Bcl-2* протеина, односно проценат ћелија код којих је дошло до транслокације цитохрома c и активације *Bax*-а и каспазе-3 у групи третираних у односу на нетретиране туморске ћелије.

#### 2.7.4. Статистичка обрада података

Статистичка обрада података ће се вршити на следећи начин:

1. За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користиће се: фреквенција, проценти, средња вредност, медијана, стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења.
2. За испитивање нормалности расподеле користиће се тестови *Kolmogorov Smirnov* и *Shapiro Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*.
3. За тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се *Student's T*-тест или *Mann-Whitney* тест.
4. Статистичка обрада података ће се радити у статистичком пакету *SPSS 18.0 for Windows*.

#### 2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Предложена студија нам може указати да новосинтетисани комплекси паладијума показују цитотоксични ефекат на ћелијске линије карцинома простате. Такође, овом студијом можемо јасно дефинисати и објаснити механизам деловања комплекса паладијума, кроз испитивање про и антиапоптогичних протеина.

#### 2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Добијени резултати би могли да унапреде наша сазнања везана за употребу хемотерапеутика у лечењу карцинома простате и отворе велики број могућности и смерове у развоју нових терапијских протокола.

#### 3. Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације се предлаже доц. др Петар Чановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна Биохемија*.

Доц. др Петар Чановић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњавају услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

### 3.1 Компетентност ментора

Радови доц. др Петра Чановића који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Zarić M, Zivković-Zarić R, Mitrović M, Nikolić I, **Čanović P**, Milosavljević Z, Jovanović D, Sekulić M, Zelen I. Teucrium polium induces apoptosis in peripheral blood lymphocytes isolated from human chronic lymphocytic leukemia. *Vojnosanit pregl.* 2019; doi: 10.2298/VSP181010005Z.
2. Popović A, Nikolić M, Mijajlović M, Ratković Z, Jevtić V, Trifunović SR, Radić G, Zarić M, **Čanović P**, Milovanović M, Radisavljević S, Medjedović M, Petrović B, Jovanović I. DNA binding and antitumor activities of zinc(II) complexes with some S-alkenyl derivatives of thiosalicylic acid. *Transit Metal Chem.* 2018; doi: 10.1007/s11243-018-0285-6.
3. Hamzagić N, Andjelković M, Stanojević Pirković M, **Čanović P**, Ignjatović V, Petrović D. Influence of secondary hyperparathyroidism in management anemia in patients on regular hemodialysis. *Vojnosanit Pregl.* 2018. doi: 10.2298/VSP171219107H.
4. Stojković DL, Jevtić VV, Vuković N, Vukić M, **Čanović P**, Zarić MM, Mišić MM, Radovanović D, Baskić D, Trifunović D. Synthesis, characterization, antimicrobial and antitumor reactivity of new palladium(II) complexes with methionine and tryptophane coumarine derivatives. *J Mol Struct.* 2018;1157:425-33.
5. Milutinović MM, **Čanović PP**, Stevanović D, Masnikosa R, Vraneš M, Tot A, Zarić MM, Simović Marković B, Misirkić Marjanović M, Vučićević Lj, Savić M, Jakovljević V, Trajković V, Volarević V, Kanjevac T, Rilak Simović A. Newly Synthesized Heteronuclear Ruthenium(II)/Ferrocene Complexes Suppress the Growth of Mammary

- Carcinoma in 4T1-Treated BALB/c Mice by Promoting Activation of Antitumor Immunity. *Organometallics*. 2018;37(22):4250–66.
6. Raković IR, Radojević ID, Mladenović KG, Popovska-Jovičić BD, Petrović S, Čanović PP, Čomić LJR, Čanović PS, Bogojeski JV. Antimicrobial, antioxidant and DNA-binding studies of palladium(II) complexes with different chelate ligands containing nitrogen donor atoms. *J Serb Chem Soc*. 2018; 83 (11):1229-1242.
  7. Čanović P, Simović AR, Radisavljević S, Bratsos I, Demitri N, Mitrović M, Zelen I, Bugarčić ŽD. Impact of aromaticity on anticancer activity of polypyridyl ruthenium(II) complexes: synthesis, structure, DNA/protein binding, lipophilicity and anticancer activity. *J Biol Inorg Chem* 2017;22(7):1007-28.

#### 4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална хирургија

#### 5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Слободан Новокмет, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска биотехнологија*, председник;
2. Проф. др Марија Миловановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија*, члан;
3. Проф. др Наташа Петронијевић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Медицинска и клиничка биохемија*, члан;
4. Проф. др Берислав Векић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, члан,
5. Доц. др Ивана Николић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Биохемија*, члан



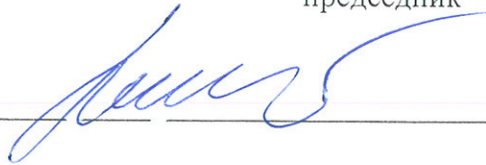
## ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Дејан Симић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Дејана Симића, под насловом: **“Испитивање цитотоксичности комплекса паладијума(II) са дериватима тиазола као лигандима на ћелијама тумора простате *in vitro*”** и одобри њену израду.

## ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ


**Проф. др Слободан Новокмет**, редовни професор Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска биотехнологија*,  
председник



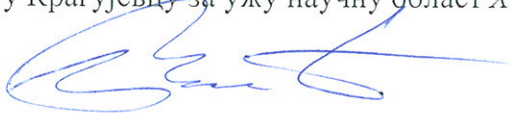
**Проф. др Марија Миловановић**, ванредни професор Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија*, члан



**Проф. др Наташа Петронијевић**, редовни професор Медицинског факултета  
Универзитета у Београду за ужу научну област *Медицинска и клиничка биохемија*, члан



**Проф. др Берислав Векић**, ванредни професор Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, члан



**Доц. др Ивана Николић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у  
Крагујевцу за ужу научну област *Биохемија*, члан



У Крагујевцу, 17.05.2019. године