

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

ПРИМЛЕНА		24. 07. 2023	
Број од	Број	Број од	Број
05	7496		

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-423/37 од 14.06.2023. године именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата **Стефана Јаковљевића** и предложеног ментора за израду докторске дисертације под називом:

„Антитуморски ефекат новосинтетисаних комплекса паладијума (II) на туморске ћелије карцинома дојке“

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

1. др **Александар Цветковић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник
2. др **Иван Марковић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Хирургија*, члан
3. др **Радица Живковић Зарић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармакологија и токсикологија*, члан.

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

2. Извештај комисије о оцену заснованости теме докторске дисертације

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

2.1. Научни приступ проблему предложеног нацрта докторске дисертације

Карцином дојке је дефинисан као малигна пролиферација епителних ћелија које облажу каналиће (дуктусе) и ацинусе (алвеоле) дојке. Карцином дојке је најчешћи узрок смрти због малигнух болести код жена широм света. Процена је да се сваке године дијагностикује око 2,3 милиона новооболелих од карцинома дојке у свету. Такође, током последње три деценије забележен је пораст инциденце, што се може приписати повећаној изложености факторима ризика од обољевања, као и касној детекцији малигнитета. Цисплатина (*cisplatin*, *cisplatinum* или *cis*-диаминдихлороплатина(II)) је метално координативно једињење које у својој структури садржи атом платине повезан са два атома хлора и две амонијум групе. Примена цисплатине показала се од есенцијалног значаја у терапији различитих типова малигнитета. Међутим, након дуготрајне терапијске примене овог лека долази до појаве великог броја нежељених ефеката, као и резистенције примарног тумора на цисплатину. У циљу превазилажења лимитираног ефекта цисплатине, принципи потенцијалне антитуморске терапије се заснивају на синтези једињења која у хемијској структури садрже металну компоненту и код којих је јасно утврђен снажан антитуморски потенцијал *in vitro*.

2.2. Процена научног доприноса крајњег исхода рада

Циљ ове докторске дисертације је испитивање потенцијалног антитуморског ефекта три новосинтетисана паладијум *Pd(II)* комплекса на ћелије карцинома дојке *MDA-MB 231*, *MCF-7*, *4T1*, као и на контролне ћелије фибробласте *MRC-5*. Испитиваће се вијабилност ћелија, механизам ћелијске смрти, ефикасност тестираних једињења, ћелијски циклус, као и концентрација протеина који имају регулаторну улогу у процесу апоптозе. Као методе користиће се тест ћелијске вијабилности (МТТ тест), проточна цитометрија и тест миграције. Планирана истраживања би првенствено требало да омогуће боље разумевање интрацелуларних сигналних путева малигну измењених ћелија као и биолошки ефекат синтетисаних једињења.

2.3. Наслов, циљеви и хипотезе докторске дисертације

Наслов: Антитуморски ефекат новосинтетисаних комплекса паладијума (II) на туморске ћелије карцинома дојке.

Циљеви:

1. Дефинисаће се релативни однос некротичне и апоптотске смрти малигнух ћелија изазване испитиваним једињењима паладијума.
2. Одредиће се ефекат испитиваних једињења на релативни однос проапоптотичног *Bax* и антиапоптотичног *Bcl-2* протеина.

3. Дефинисаће се ефекат испитиваних комплекса на активацију *Bax* протеина и каспазе-3.
4. Дефинисаће се улога испитиваних једињења *Pd1*, *Pd2*, *Pd3* у ћелијском циклусу малигнућелија.
5. Испитиваће се антиметастатски ефект комплекса паладијума на малигне ћелијске линије.

Хипотезе: Сходно досадашњим сазнањима и постављеним циљевима, радне хипотезе студије су следеће:

1. Новосинтетисани комплекси паладијума *Pd1*, *Pd2* и *Pd3* индукују снажан антитуморски ефекат на малигно измењене ћелије, а слабији цитотксични ефекат испољавају на контролне ћелије, хумане фибробласте.
2. Синтетисана једињења паладијума индукују апоптозу туморских ћелија, изменом релативног односа *Bax/Bcl-2*, и активацијом егзекуторске каспазе-3.
3. Комплекси паладијума свој антитуморски ефекат остварују тако што проузрокују застој у ћелијском циклусу туморских ћелија.

2.4. Методе истраживања

2.4.1. Врста студије

Студија је дизајнирана као експериментална студија на материјалу хуманог и анималног порекла *in vitro*.

2.4.2. Популација која се истражује

За истраживање ће се користити две хумане ћелијске линије карцинома дојке *MDA-MB-231*, *MCF-7* и једна мишја ћелијска линија карцинома дојке 4Т1, а контролу ће чинити малигно неизмењени фибробласти *MRC-5*.

2.4.3. Узорковање

У свим узорцима који буду укључени у студију одређиваће се вијабилност ћелија 24, 48 и 72 часа након третмана различитим концентрацијама испитиваних једињења *Pd(II)* (0,3 до 100 μ М) у односу на контролне, нетретирание ћелије применом теста ћелијске вијабилности - МТТ тест (9). Релативни однос некротичне и апоптотске смрти малигнућелија изазване испитиваним *Pd(II)* 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* и активну каспазу-3 одредиће се релативни однос проапоптотичног *Bax* и антиапоптотичног *Bcl-2* протеина, односно проценат ћелија код којих је дошло до активације *Bax*-а и каспазе-3 у групи третираних у односу на нетретиране туморске ћелије. Бојење ћелија пропидијум-јодидом (*PI*) биће коришћено за анализу процентуалне заступљености вијабилних ћелија у одређеној фази ћелијског циклуса. Такође, радиће се тест миграције (*in vitro* „scrath” тест) за испитивање утицаја комплекса паладијума на миграцију малигних ћелија.

2.4.4. Варијабле које се мере у студији

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

2.4.5. Снага студије и величине узорка

Величина група је одређена на основу следећих почетних параметара: снаге студије од 95%, вероватноће грешке првог типа (α) од 0.05 за двосмерно тестирање хипотезе. Експериментали део студије ће се радити у трипликату, у 7 концентрација, а свака појединачна концентрација ће бити апликована у 3 бунара. Укупна величина узорка ($\text{total sample size}=54$) израчуната је на основу програма *G power* и коришћењем теста корелације (*Correlation: point biserial model*). Вредност коефицијента детерминације (ρ^2) је 0.2.

2.4.6. Статистичка анализа

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 *Shapir 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*.

Добијени резултати истраживања биће приказани табеларно и графички.

2.5. Значај истраживања за развој науке

Предложено истраживање може омогућити да се јасно одреди потенцијални антитуморски ефекат новосинтетисаних једињења паладијума обележених као *Pd1*, *Pd2* и *Pd3* на ћелије карцинома дојке и малигно неизмењене фибробласте. Осим тога, детаљно ће се одредити утицај комплекса паладијума на процес апоптозе и ћелијски циклус. Такође, дефинисаће се и потенцијални антиметастатски ефекат испитиваних биоактивних супстанци. Добијени резултати студије би могли да послуже као одлична база за синтезу нових, ефикасних хемотерапеутика који би се користили у терапији карцинома дојке.

2.6. Образложење теме докторске дисертације и оригиналност идеје

С обзиром да је карцином дојке најчешћи узрок смрти због малигнух болести код жена широм света, примена цисплатине показала се од есенцијалног значаја у терапији различитих типова малигнитета. Међутим, након дуготрајне терапијске примене овог лека долази до појаве великог броја нежељених ефеката као и резистенције примарног тумора на цисплатину. У циљу превазилажења лимитираног ефекта цисплатине, принципи потенцијалне антитуморске терапије се заснивају на синтези једињења која у хемијској структури садрже металну компоненту и код којих је јасно утврђен снажан антитуморски потенцијал *in vitro*. Из тог разлога, циљ ове докторске дисертације је испитивање потенцијалног антитуморског ефекта три новосинтетисана *Pd(II)* комплекса на ћелије карцинома дојке *MDA-MB 231*, *MCF-7*, *4T1*, као и на контролне ћелије фибробласте *MRC-5*. Испитиваће се вијабилност ћелија, механизам ћелијске смрти, ефикасност тестираних једињења, ћелијски циклус, као и концентрација протеина који имају регулаторну улогу у процесу апоптозе. Планирана истраживања би првенствено требало да омогуће боље разумевање интрацелуларних сигналних путева малигно измењених ћелија као и биолошки ефекат нових синтетисаних једињења.

2.7. Кратка биографија и научно-истраживачки рад кандидата

Стефан Јаковљевић рођен је 06.07.1987. године у Крагујевцу, завршио је средњу Медицинску школу са домом ученика „Сестре Нинковић“ у Крагујевцу са одличним успехом. Школске 2006/07. године уписао је Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу као редован, буџетски студент. Дипломирао је школске 2013/14. године на Интегрисаним академским студијама медицине - доктор медицине са просечном оценом 8,18 (осам и 18/100). Школске 2018/19. године је уписао прву годину Докторских академских студија - медицинске науке, смер

Клиничка и експериментална хирургија на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, где је положио све испите предвиђене планом и програмом у року и дана 01.03.2023. године положио усмени докторски испит и добио оцену 10 (десет). Од маја 2020. године запослен је као лекар на Клиници за општу хирургију Универзитетског клиничког центра Крагујевац, а од јуна 2021. године уписан је на специјалистичке студије из опште хирургије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Од школске 2020/21. године ангажован је као фацитатор на Катедри за хирургију на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Члан је Лекарске коморе Србије и Српског лекарског друштва. Аутор је и коаутор више стручних радова у домаћим и страним часописима.

Као први аутор објавио је један рад у целини у часопису категорије M23, чиме је испунио услов за пријаву докторске дисертације и то:

Jakovljevic S, Cvetkovic A, Spasic M, Stojanovic B, Petrovic M, Milosevic B. A rare case of type II Amyand's hernia. J Pak Med Assoc 2023; doi.org/10.47391/JPMA.6700 (M23, IF 1.002)

3. Предлог ментора/ коментора

За коменторе ове докторске дисертације се предлажу **проф. др Петар Чановић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Медицинска биохемија* и **доц. др Марко Спасић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*. Наведени коментори поседују 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 коментора

Проф. др Петар Чановић

1. **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**

2. Zaric M, Zivkovic-Zaric R, Mitrovic M, Nikolic I, **Canovic P**, Milosavljevic Z, Jovanovic D, Sekulic M, Zelen I. Teucrium polium induces apoptosis in peripheral blood lymphocytes isolated from human chronic lymphocytic leukemia. *Vojnosanit pregl.* 2020; 77(12):1252-1259
3. 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.
4. 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.
5. Popović A, Nikolić M, Mijajlović M, Ratković Z, Jevtić V, Trifunović SR, Radic G, Zaric M, **Canovic P**, Milovanovic M, Radisavljevic S, Medjedovic M, Petrovic B, Jovanovic I. DNA binding and antitumor activities of zinc(II) complexes with some S-alkenyl derivatives of thiosalicylic acid. *Transit Metal Chem.* 2019; 44:219–228
6. 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.
7. Hamzagic N, Andjelkovic M, Stanojevic Pirkovic M, **Canovic P**, Ignjatovic V, Petrovic D. Influence of secondary hyperparathyroidism in management anemia in patients on regular hemodialysis. *Vojnosanit Pregl.* 2020; 77(5):508-515

Доц. др Марко Спасић

1. **Spasic M**, Zaric D, Mitrovic M, Milojevic S, Nedovic N, Sekulic M, Stojanovic B, Vulovic D, Milosevic B, Milutinovic F, Milosavljevic N. Secondary Breast Malignancy from Renal Cell Carcinoma:Challenges in Diagnosis and Treatment-Case Report. *Diagnostics* 2023;13(5):991.
2. Kostić M, Janković S, Desnica J, Lukić S, Mijailović S, Anđelković M, Stanojević Pirković M, Milovanović O, **Spasić M**, Vojinović T, Ružić Zečević D. Resource Use and Costs Related to Hematological Complications of Chemotherapy: Cost of Illness Study Based on Data from Balkan Country with Recent History of Socioeconomic Transition. *Iran J Public Health* 2022;51(11):2573-2581.
3. Jakovljevic S, **Spasic M**, Milosavljevic M, Azanjac G, Protrka Z, Radovanovic D, Mitrovic S. Pure primary osteosarcoma of the breast: case report. *Eur J Gynaecol Oncol* 2013; 34(5):476-479.

4. Jakovljevic S, Cvetkovic A, **Spasic M**, Stojanovic B, Petrovic M and Milosevic B. A rare case of type II Amyand hernia. J Pak Med Assoc 2023 doi.org/10.47391/JPMA.6700.
5. Stojanovic B, Jovanovic IP, Stojanovic MD, Jovanovic M, Vekic B, Milosevic B, Cvetkovic A, **Spasic M**, Stojanovic BS. The Emerging Roles of the Adaptive Immune Response in Acute Pancreatitis. Cells 2023; 12(11):1495.
6. Milisavljevic S, **Spasic M**. Cancer-specific Survival as an Endpoint after SBRT for Early-stage Non-Small Cell Lung Cancer. Int J Radiat Oncol 2016; 94(5): 1219-1220.
7. Lazovic A, Dimitrijevic Stojanovic M, Milosavljevic M, Stankovic V, Milosevic B, Stojanovic SB, **Spasic M**, Cvetkovic A and Stojanovic B. Incidental finding of synchronous neuroendocrine tumor of appendix and rectal adenocarcinoma. A case report and literature review. Oncologie 2023; doi 10.1515/oncologie-2023-0034.

4. Научна област дисертације

Научна област: Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална хирургија.

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Александар Цветковић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник
2. **Проф. др Иван Марковић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Хирургија*, члан
3. **Доц. др Радица Живковић Зарић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармакологија и токсикологија*, члан

Сви предложени чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Стефана Јаковљевића имају стручне и научне компетенције подударне са предметом истраживања.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу увида у резултате досадашњег научно-истраживачког рада Стефана Јаковљевића, комисија закључује да кандидат испуњава услове да приступи изради докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата Стефана Јаковљевића под називом: „Антитуморски ефекат новосинтетисаних комплекса паладијума (II) на туморске ћелије карцинома дојке“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Александар Цветковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник



2. Проф. др Иван Марковић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Хирургија*, члан



3. Доц. др Радица Живковић Зарић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармакологија и токсикологија*, члан



У Крагујевцу, 28. 06. 2023. године