

**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 дана 04.04.2018. године, одлуком бр. IV-03-247/25 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Утицај дијабетес мелитуса на раст и прогресију мишјег тумора дојке“ кандидата др Невене Гајовић, у следећем саставу:

1. Проф. др Миодраг Л. Лукић, редовни професор - емеритус Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник
2. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан
3. Проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан
4. Проф. др Срђан Нинковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан
5. Доц. др Јелена Пантић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију др Невене Гајовић 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 др Невене Гајовић под насловом „Утицај дијабетес мелитуса на раст и прогресију мишћег тумора дојке“ урађена под менторством проф. др Ивана Јовановића, ванредног професора Факултета медицинских наука у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Онкологија, представља оригиналну студију која се бавила испитивањем утицаја дијабетес мелитуса на раст и развој тумора и на модулацију антитуморског имунског одговора у експерименталном мишћем моделу карцинома дојке.

### 2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Претрагом литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „Medline“ и „CoBSON“ помоћу следећих кључних речи: "*diabetes mellitus*", "*mouse mammary tumor*", "*immune response*" нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. На основу тога, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Невене Гајовић под називом „Утицај дијабетес мелитуса на раст и прогресију мишћег тумора дојке“, представља резултат оригиналног научног рада.

*Diabetes mellitus* је група метаболичких болести, коју карактерише висока концентрација глукозе у крви и настаје као последица поремећаја у секрецији или дејству инсулина. Висока концентрације глукозе у крви, карактеристична за све типове дијабетеса, је узрок настанка бројних акутних и хроничних компликација и повећане осетљивости на развој инфекција.

Бројне студије указују да су пацијенти оболели од дијабетес мелитуса подложнији развоју карцинома дојке те да се дијабетес може убројати у факторе ризика за развој овог тумора. Карцином дојке је један од водећих узрока смрти жена. Главни узрок смрти је развој метастаза у плућима, јетри, костима и мозгу. Туморско ткиво инфилтрише хетерогена популација ћелија урођене и стечене имуности. Ефекторски механизми ћелија урођене и стечене имуности играју веома важну улогу у елиминацији туморских ћелија.

Ћелије природне убице (енгл. *Natural Killer cells*, NK) представљају главну компоненту урођене антитуморске имуности. Активација NK ћелија строго је регулисана балансом сигнала са активаторних и инхибиторних рецептора. Цитотоксички Т лимфоцити (енгл. *Cytotoxic T lymphocyte*, CTL) представљају главни механизам стечене антитуморске имуности. CTLs користе исте ефекторске механизме као и NK ћелије у елиминацији туморских ћелија. Хипергликемија на бројне начине утиче на функције ћелија, између осталог и подстицањем продукције кисеоничних слободних радикала односно развојем оксидативног стреса као и подстицањем настанка стреса ендоплазматског ретикулума. У научној литератури нема података о повезаности дијабетеса, оксидативног стреса и модулације антитуморске имуности. У овој студији испитиван је утицај дијабетес мелитуса на раст и развој тумора дојке и на модулацију антитуморског имунског одговора. Резултати ове студије показују да се код дијабетичних мишева раније појављује палпабилан примарни тумор. Дијабетес убрзава и раст тумора у групи мишева третираних стрептозотоцином у поређењу са групом мишева третираних цитратним пуфером. У мишева третираних стрептозотоцином, детектована је значајно мања цитотоксичност спленоцита и NK ћелија према туморским ћелијама. Након уклањања NK ћелија *in vivo*, нестала је разлика у дијаметру и маси примарних тумора између STZ, односно СВ третираних мишева, што указује на кључну улогу NK ћелија у анти-туморском имунском одговору на 4Т1 карцином дојке. Показано је и да дијабетес мелитус значајно смањује експресију NKG2D, перфоруина, IFN- $\gamma$ , IL-17, а повећава експресију PD-1 молекула и IL-10 на спленичним NK ћелијама. Такође је потврђено да дијабетес мелитус повећава системску концентрацију IL-10 и поспешује акумулацију имunosупресивних ћелија у мишева са тумором дојке. Анализа туморске микросредине одражава ефекат забележен у периферним лимфним органима. Показано је да дијабетични серум мења фенотип NK ћелија у *in vitro* условима смањујући експресију активационих и повећавајући експресију инхибиционих рецептора. Регистрована је већа експресија индуцибилне азот моноксид синтазе (iNOS) и индоламин 2,3 диоксигеназе (IDO) у слезинским MDSCs и DCs. 1-MT, блокадом IDO, у потпуности неутралише супресивни ефекат дијабетичног серума и враћа фенотип NK ћелија на ниво здравог миша.

## 2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

### А. Кратка биографија кандидата

Др Невена Гајовић рођена је 04.04.1987. године у Крагујевцу, где је похађала основну школу и Прву крагујевачку гимназију. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу уписала је школске 2006/2007. године, а дипломирала је 30.07.2013. године са просечном оценом 9,22. У току студирања, школске 2007/08. и 2008/09. године била је демонстратор на предмету Хистологија и ембриологија. Обавезан лекарски стаж обавила је у КЦ Крагујевац и ДЗ Крагујевац у трајању од 6 месеци. Школске 2013/2014. године уписала је Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Од 2014. године запослена је на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, где данас обавља послове сарадника у звању асистента за ужу научну област Микробиологија и имунологија. Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, изборно подручје Имунологија, инфекција и инфламација уписала је 2013/2014. године. Усмени докторски испит је положила у фебруару 2016. године. Започела је специјалистички стаж из Имунологије 11. октобра 2016., на Факултету медицинских наука у Крагујевцу Активно учествује у истраживачком раду у Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Руководилац је јуниор пројекта под називом “Утицај дијабетес мелитуса на раст и прогресију мишјег тумора дојке” који се реализује на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Говори енглески језик и познаје рад на рачунару.

Др Невена Гајовић се активно бави научно-истраживачким радом. Аутор је и коаутор више радова у часописима од међународног и националног значаја са рецензијом. Збирни импакт фактор радова је 11,903 у М20 категорији.

Тема докторске дисертације под називом „Утицај дијабетес мелитуса на раст и прогресију мишјег тумора дојке“, представља резултат оригиналног научног рада, прихваћена је 2016. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

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

1. **Gajovic N, Jurisevic M, Pantic J, Radosavljevic G, Arsenijevic N, Lukic ML, Jovanovic I.** Attenuation of NK cells facilitates mammary tumor growth in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Endocr Relat Cancer.* 2018; 25 (4): 493-507. **M21**

2. Lukic R, **Gajovic N**, Jovanovic I, Jurisevic M, Mijailovic Z, Maric V, Popovska Jovicic B, Arsenijevic N. Potential Hepatoprotective Role of Galectin-3 during HCV Infection in End-Stage Renal Disease Patients. *Dis Markers*. 2017; 2017: 6275987. **M22**
3. Pantic JM, Jovanovic IP, Radosavljevic GD, **Gajovic NM**, Arsenijevic NN, Conlon JM, Lukic ML. The frog skin host-defense peptide frenatin 2.1S enhances recruitment, activation and tumoricidal capacity of NK cells. *Peptides*. 2017; 93: 44-50. **M22**

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

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Одобрени циљеви истраживања и постављени циљеви у раду су остали исти. Примењена методологија истраживања је идентична са одобреном. Докторска дисертација др Невене Гајовић написана је на 125 страна и садржи следећа поглавља: увод, циљеве истраживања, материјал и методе, резултате, дискусију, закључак и литературу.

У уводном делу кандидат је, цитирајући релевантну литературу, детаљно објаснио карактеристике дијабетес мелитуса, карцинома дојке и имунског одговора у дијабетес мелитусу. Посебна пажња је посвећена досадашњим сазнањима о повезаности дијабетес мелитуса и карцинома дојке.

Након јасно дефинисаних циљева истраживања и хипотеза студије, који се поклапају са онима одобреним приликом пријаве тезе, кандидат је детаљно описао методологију извођења истраживања. Материјал и методе рада детаљно су и прецизно написани, и поклапају се са подацима изнетим у пријави тезе. У оквиру овог поглавља је детаљно описан начин извођења експеримената, индукција дијабетес мелитуса и тумора дојке, праћење појаве и раста тумора, анализа цитотоксичности спленоцита, анализа фенотипских карактеристика ћелија изолованих из слезине и примарног тумора.

Резултати истраживања систематично су приказани и добро документовани. Дијабетес мелитус је убрзао појаву, раст и масу примарног тумора што је праћено смањеном цитотоксичношћу NK ћелија према 4T1 ћелијама, *in vitro*. Дијабетес мелитус је значајно смањено процентуалну заступљеност NKG2D<sup>+</sup>, перфорин<sup>+</sup>, гранзим<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> и IL-17<sup>+</sup> NK ћелија, док је повећао експресију PD-1 молекула и продукцију IL-10 у NK ћелијама у слезини. Дијабетес је значајно смањено проценат NKG2D<sup>+</sup> NK ћелија и повећао проценат PD-1<sup>+</sup> NK ћелија и у примарном тумору. Дијабетично стање је повећало акумулацију IL-10<sup>+</sup> Tregs и TGF- $\beta$ <sup>+</sup> мијелоидних супресорских ћелија (MDSCs) у слезини и примарном тумору. Дијабетични серум је у *in vitro* условима значајно повећао проценат KLRG-1<sup>+</sup> и PD-1<sup>+</sup> NK ћелија, смањено проценат IFN- $\gamma$ <sup>+</sup> NK ћелија, експресију NKp46 и продукцију перфорина,

гранзима, CD107a и IL-17 у NK ћелијама у поређењу са серумом коме је додата глукоза односно са контролним серумом. Дијабетес мелитус је значајно повећао експресију индуцибилне азот моноксид синтазе (iNOS) и индоламин 2,3-диоксигеназе (IDO) у слезинским MDSCs и дендритским ћелијама (DC) мишева пре индукције тумора. *Специфични инхибитор* индоламин 2,3-диоксигеназе, *1-метил-DL-триптофан*, је готово у потпуности повратио фенотип NK ћелија култивисаних у дијабетичном серуму. Ови резултати указују да дијабетес мелитус убрзава раст тумора повећаном акумулацијом имуносупресивних ћелија и супресијом NK ћелија активношћу ензима IDO.

У поглављу Дискусија анализирани су добијени резултати и поређени са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су врло детаљно дискутовани, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. Резултати су дискутовани у контексту сличних, различитих, па чак и опречних података о утицају дијабетес мелитуса на раст и развој мишјег карцинома дојке. При томе су наведени ставови из најзначајнијих оригиналних и ревијских научних радова поменуте области.

Након сумирања главних резултата и закључака студије, кандидат је прецизно навео све референце коришћене у припреми и реализацији дисертације.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата др Невене Гајовић под насловом „Утицај дијабетес мелитуса на раст и прогресију мишјег тумора дојке“, по обиму и квалитету израде одговара пријављеној теми дисертације.

## 2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања садржани су у следећим закључцима:

1. Дијабетес мелитус убрзава појаву палпабилног тумора и раст примарног тумора;
2. Дијабетес мелитус смањује цитотоксичност укупних спленоцита и посебно NK ћелија;
3. Смањена експресија NKG2D, перфоруина, IFN- $\gamma$ , IL-17, а повећана експресија PD-1 молекула и IL-10 на спленичним и интратуморским NK ћелијама мишева са дијабетесом;
4. Култивација у серуму мишева са дијабетесом повећава проценат KLRG-1<sup>+</sup> и PD-1<sup>+</sup> NK ћелија, смањује експресију NKp46, CD107a и производњу перфоруина, гранзима, IFN- $\gamma$  и IL-17 по NK ћелији у поређењу са серумом са додатом глукозом и контролним серумом, *in vitro*;

5. Дијабетес значајно повећава процентуалну засупљеност iNOS<sup>+</sup>, односно IDO<sup>+</sup> MDSCs и DCs;
6. Инхибиција IDO-а у дијабетичним условима повећава проценат NKG2D<sup>+</sup>, NKp46<sup>+</sup>, CD69<sup>+</sup>, перфорин и гранзим продукујућих NK ћелија, а смањује проценат PD-1<sup>+</sup> и IL-10 продукујућих NK ћелија, *in vitro*.

## **2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси**

Резултати приказани у овом раду по први пут показују да дијабетес промовише раст тумора дојке кроз супресију антитуморског имунског одговора. Дијабетес појачава акумулацију iNOS и IDO продукујућих имуносупресивних ћелија урођене имуности и следствену инхибицију туморицидног фенотипа NK ћелија. Раст тумора дојке у дијабетичном стању би се могао контролисати развојем нових агенаса базираним на селективној блокади iNOS-а и IDO-а.

## **2.7. Начин презентирања резултата научној јавности**

Резултати ове докторске дисертације објављени су међународном часопису, категорије M21 са импакт фактором 5,267.

## **ЗАКЉУЧАК**

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Невене Гајовић под насловом „Утицај дијабетес мелитуса на раст и прогресију мишјег тумора дојке“ на основу свега наведеног, сматра да је истраживање у оквиру тезе засновано на савременим сазнањима и прецизно осмишљеној методологији, и да је адекватно и прецизно спроведено. Добијени резултати су прегледни, јасни, добро продискутовани и дају значајан допринос у решавању актуелне и недовољно проучаване и третиране проблематике.

Комисија сматра да ова докторска дисертација кандидата др Невене Гајовић, урађена под менторством проф. др Ивана Јовановића, представља оригинални научни допринос и од великог је научног и практичног значаја за разумевање утицаја дијабетес мелитуса у расту и развоју тумора дојке.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Утицај дијабетес мелитуса на раст и прогресију мишјег тумора дојке“ кандидата др Невене Гајовић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

1. Проф. др Миодраг Л. Лукић, професор емеритус Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник



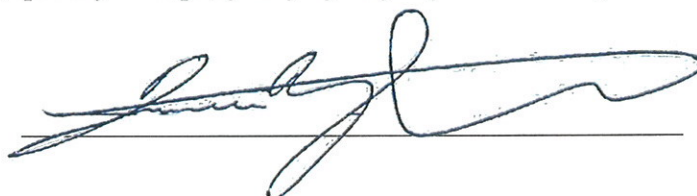
---

2. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан



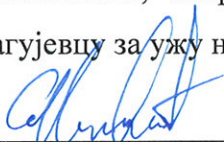
---

3. Проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан



---

4. Проф. др Срђан Нинковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан



---

5. Доц. др Јелена Пантић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

Јелена Пантић

---

Крагујевац, 06. IV 2018.