

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО: 02.11.18			
Служба	Број	Прилог	Вредност
05	12873/1-1		

### 1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-620/24, од 29.08.2018. године именована је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом:

"Утицај новосинтетисаног лиганда (*O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида) на раст и метастазирање мишјег карцинома дојке и меланома" кандидата *mr ph* Милене Јуришевић у следећем саставу:

1. Проф. др Иван Јовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области *Микробиологија и имунологија* и *Онкологија*, председник;
2. Проф. др Гордана Радић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска хемија*, члан;
3. Проф. др Тибор Сабо, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област *Општа и неорганска хемија*, члан;

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију *mr ph* Милене Јуришевић 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 *mr ph* Милене Јуришевић под називом „Утицај новосинтетисаног лиганда (*O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида) на раст и метастазирање мишјег карцинома дојке и меланома“, урађена под менторством проф. др Гордане Радосављевић, ванредног професора Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија*, представља оригиналну студију која се бави испитивањем утицаја *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида (DE-EDCP) на прогресију карцинома дојке

(4T1) и меланома (B16-F10) миша као и испитивањем механизма његове потенцијалне антитуморске активности.

Примена цисплатине је једна од ефикасних терапијских мера код пацијената оболелих од одређених карцинома. Посебно место у данашњим истраживањима новосинтетисаних потенцијалних хемиотерапеутика заузимају комплекси метала са диаминским лигандима. Успешно је синтетисан велики број лиганада едда (етилендиамин-*N,N'*-диацетат) типа као и одговарајући комплекси метала са овим лигандима. Приликом анализе биолошке активности синтетисаних комплекса *O,O'*-диалкил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат платина(II) / (IV) и њихових одговарајућих лиганада *in vitro* уочено је да један од лиганада, *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорид (DE-EDCP), показује антитуморску активност приближно једнаку или чак бољу од цисплатине. Испитивањем токсичног ефекта *O,O'*-диалкил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат лиганада *in vitro* на ћелијским линијама леукемија примећено је да етилестар испољава највећи токсични ефекат. У овој студији су испитивани антитуморски ефекти *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида (DE-EDCP) у моделу мишјег карцинома дојке и меланома као и потенцијални механизми антитуморског дејства. У актуелној студији је по први пут детерминисан туморицидни потенцијал DE-EDCP на линијама ћелија карцинома дојке. Резултати сугеришу на то да DE-EDCP остварује значајну дозно зависну цитотоксичку активност на линији ћелија карцинома дојке миша и људи, као и B16-F10 варијанте мишјег меланома. Важан налаз ове студије сугерише на то да DE-EDCP има способност да значајно успори прогресију карцинома дојке и меланома. На основу добијених резултата овог истраживања може се констатовати да DE-EDCP повећава осетљивост туморских ћелија на апоптозу што се огледа у способности да смањује експресију антиапоптотског Bcl-2 (енг. *B-cell lymphoma 2*) и повећава експресију проапоптотског протеина Вах. Коначни исход измењеног баланса између ових молекула је повећана пропустљивост митохондријалне мембране што следствено узрокује апоптозу која зависи од каспазе-3. У актуелној студији је забележено да DE-EDCP повећава заступљеност мишјих ћелија карцинома дојке у G0/G1 фази ћелијског циклуса и овај антипролиферативни ефекат је дозно зависан. Испитивањем механизма задржавања туморских ћелија у G0/G1 фази ћелијског циклуса може се констатовати да DE-EDCP смањује експресију циклина D3 и Ki-67 као и да повећава експресију инхибитора циклин зависних киназа, p16, p21 и p27, што резултује задржавањем ћелија у G0/G1 фази ћелијског циклуса, а тиме не само да инхибира пролиферацију туморских ћелија већ и вероватно додатно фацилитира њихову осетљивост на апоптозу. Резултати указују и да је један од важних антитуморских ефеката DE-EDCP смањење експресије STAT3 (енг. *Signal transducer and activator of transcription 3*) у ћелијама карцинома дојке миша што је праћено значајно нижом експресијом SOX2 и NANOG иРНК (информациона рибонуклеинска киселина). DE-EDCP инхибира прогресију мишјег карцинома дојке што је последица како директних ефеката испитиване супстанце на туморске ћелије тако и појачаног антитуморског имунског одговора. DE-EDCP осим што повећава инфлукс, подстиче туморицидни фенотип и задржава респонзивност NK (енгл. *Natural killer cells*) и NKT (енгл. *Natural killer T cells*) ћелија у мишјем карциному

дојке. Регистровано је да DE-EDCP показује мању токсичност у односу на цисплатину у мишићем 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", "PubMed", и "CoBSON" помоћу следећих кључних речи: ("*O,O'*-diethyl-(*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoate dihydrochloride", "breast cancer growth", "melanoma", "metastasis", "apoptosis", "proliferation", "anti-tumor immune response" "NKT cells" и "NK cells") нису пронађене студије оваквог дизајна и методолошког приступа, чиме ова студија добија на значају и оригиналности. На основу тога, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата *mr ph* Милене Јуришевић под називом "**Утицај новосинтетисаног лиганда (*O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида) на раст и метастазирање мишићег карцинома дојке и меланома**", представља резултат оригиналног научног рада.

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

### **А. Лични подаци**

Кандидат *mr ph* Милена Јуришевић рођена је 26.02.1988. године у Крагујевцу, где је завршила основну школу и Прву крагујевачку гимназију. Интегрисане академске студије фармације на Медицинском факултету у Крагујевцу уписала је школске 2006/2007. године, а завршила их на истом факултету 15.09.2011. године, са просечном оценом 9,38 (девет и 38/100), чиме је стекла стручно звање магистар фармације. По завршетку основних студија обавила је приправнички стаж и положила стручни испит за магистра фармације.

Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, изборно подручје Молекулска медицина - подподручје Клиничка и експериментална фармакологија, уписала је школске 2011/2012. године. Усмени докторски испит је положила у јулу 2014. године. Од 2012. године запослена је на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, где до данас обавља послове сарадника у настави у звању асистента за ужу научну област Клиничка фармација. Започела је специјалистички стаж из Клиничке фармације 4. децембра 2017. године, 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.

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

Научни радови објављени у целини у часописима:

1. **Jurisevic M**, Arsenijevic A, Pantic J, Gajovic N, Milovanovic J, Milovanovic M, Poljarevic J, Sabo T, Vojvodic D, Radosavljevic GD, Arsenijevic N. The organic ester *O,O'*-diethyl-(*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoate dihydrochloride attenuates murine breast cancer growth and metastasis. *Oncotarget*. 2018; 9(46): 28195-28212. **M21 (категоризација за 2016. годину)**
2. **Jurisevic M**, Jagic N, Gajovic N, Arsenijevic A, Jovanovic M, Milovanovic M, Pantic J, Jovanovic I, Sabo T, Radosavljevic G, Arsenijevic N. *O,O'*-diethyl-(*S,S*)-ethylenediamine-*N,N'*-di-2-(3-cyclohexyl)propanoate dihydrochloride enhances influx of effective NK and NKT cells in murine breast cancer. *Vojnosanit pregl*. 2018; doi: 10.2298/VSP180723149J. **M23**
3. 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**
4. Jovanovic M, Gajovic N, Zdravkovic N, Jovanovic M, **Jurisevic M**, Vojvodic D, Maric V, Arsenijevic A, Jovanovic I. Fecal Galectin-3: A New Promising Biomarker for Severity and Progression of Colorectal Carcinoma. *Mediators Inflamm*. 2018; 2018: 8031328. **M22**

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

Спроведено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Постављени циљеви истраживања остали су у највећој мери идентични са одобреним у пријави тезе. Примењена методологија истраживања идентична је са одобреном. Докторска дисертација *in vivo* Милене Јуришевић написана је на 166 страна и садржи следећа поглавља: Увод, Циљ рада, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Референце.

У уводном делу кандидат је јасно и прецизно изложио досадашња сазнања о комплексима платине, лигандима *edda* (етилендиамин-*N,N'*-диацетат) типа и испитиваној супстанци DE-EDCP, и фармаколошким особинама комплекса платине. Посебна пажња посвећена је досадашњим сазнањима о утицају различитих фармаколошких агенаса на ћелијски циклус, апоптозу и модулацију антитуморског имунског одговора.

Јасно је изложен главни циљ, а то је испитивање утицаја *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида (DE-EDCP) на прогресију карцинома дојке (4T1) и меланома (B16-F10) миша са посебним освртом на механизме његове потенцијалне антитуморске активности.

Материјал и методологија рада су истоветни са наведеним у пријави дисертације. Методологија рада је приказана прецизно и на одговарајући начин. Детаљно су описане све технике коришћене у студији.

У наставку докторске дисертације, резултати истраживања систематично су приказани и адекватно и квалитетно документовани табелама, сликама и графиконима. Показано је да DE-EDCP показује дозно-зависни туморицидни потенцијал на све тестиране линије туморских ћелија; хуманог карцинома дојке (MDA-MB-231 и MDA-MB-468), мишјег карцинома дојке (4T1) и мишјег меланома (B16-F10) и овакав потенцијал је сличан цисплатини која је коришћена као референтни хемиотерапеутик. Резултати *in vivo* експеримената показују да су мишеви третирани са DE-EDCP релативно отпорни на прогресију карцинома дојке и меланома. Показано је да се највећи удео у антитуморској активности DE-EDCP заснива на директном дејству на туморске ћелије и огледа се у способности DE-EDCP да индукује апоптозу као и да инхибира прогресију ћелијског циклуса. Уочено је и да DE-EDCP у туморским ћелијама смањује експресију антиапоптогског Bcl-2 и повећава експресију проапоптогског протеина Вах што следствено узрокује активацију ефекторске каспазе-3 и апоптозу. DE-EDCP повећава експресију инхибитора циклин тависних киназа (p16, p21 и p27) и истовремено редукује експресију циклина D3 и Ki-67 у малигним ћелијама што за крајњу последицу има заустављање ћелијског циклуса у G0/G1 фази. Редукција малигног потенцијала туморских ћелија условљена применом DE-EDCP заснована је и на инхибицији нисходне каскаде сигналног пута STAT3 која укључује SOX2 и NANOG. Антитуморска активност DE-EDCP је делимично и последица повећане заступљености туморицидних NK ћелија у туморској микросредини. Уочено је и да системска примена DE-EDCP показује мању токсичност у односу на цисплатину.

У поглављу Дискусија анализирани су добијени резултати и поређени са литературним подацима из ове области. Резултати су дискутовани у контексту сличних, различитих и конфликтних података о утицају *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида на раст и развој мишјег карцинома дојке и меланома, као и потенцијалних механизма на којим се завнива антитуморицидна ефикасност испитиваног једињења. При томе су наведени ставови из значајних оригиналних и ревијских научних радова поменуто области.

Литература је адекватна по обиму и садржају. Цитирано је 468 библиографских јединица из иностраних стручних публикација.

На основу предходно изнетих чињеница, комисија сматра да завршена докторска дисертација под називом **"Утицај новосинтетисаног лиганда (*O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида) на раст и метастазирање мишјег карцинома дојке и меланома"**, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној и одобреној теми дисертације.

## 2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања садржани су у следећим закључцима:

1. *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорид (DE-EDCP) показује туморицидни потенцијал на све тестиране линије туморских ћелија: хуманог карцинома дојке (MDA-MB-231 и MDA-MB-468), мишјег карцинома дојке (4T1) и мишјег меланома (B16-F10) и овакав потенцијал је сличан референтном хемиотерапутику
2. Мишеви третирани са DE-EDCP су релативно отпорни на прогресију карцинома дојке и меланома
3. Директно дејство DE-EDCP на туморске ћелије има највећи удео у антитуморској активности испитиване супстанце и огледа се у способности да индукује апоптозу и да инхибира прогресију ћелијског циклуса
4. DE-EDCP у туморским ћелијама смањује експресију антиапоптотског Bcl-2 и повећава експресију проапоптотског протеина Bax што следствено узрокује активацију ефекторске каспазе-3 и апоптозу
5. DE-EDCP повећава експресију p16, p21 и p27 и на тај начин редукује експресију циклина D3 и Ki-67 у малигним ћелијама што за крајњу последицу има заустављање ћелијског циклуса у G0/G1 фази
6. DE-EDCP редукује малигни потенцијал туморских ћелија тако што инхибира нисходну каскаду сигналног пута STAT3 која укључује SOX2 и NANOG
7. Антитуморска активност DE-EDCP је делимично и последица повећане заступљености туморицидних NK ћелија у туморској микросредини
8. DE-EDCP показује мању токсичност у односу на цисплатину

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

Добијени резултати истраживања дају оригиналан и важан допринос разумевању механизма антитуморске активности испитиваног једињења. *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорид инхибира прогресију тумора директним дејством на туморске ћелије које се огледа у његовој способности да индукује апоптозу и инхибира пролиферацију туморских ћелија. Антитуморска активност *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида је делимично и последица повећане заступљености туморицидних NK ћелија у туморској микросредини. Добијени резултати указују на могућност коришћења *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида у експерименталној терапији карцинома.

## 2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати овог истраживања су објављени у међународним часописима категорије M23 (Vojnosanit pregl. 2018; doi: 10.2298/VSP180723149J) и M21 (Oncotarget. 2018; 9(46):28195-28212)

## ЗАКЉУЧАК

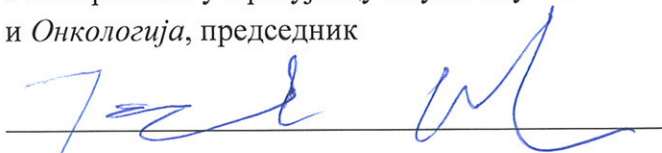
Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата *mr ph* Милене Јуришевић под називом „Утицај новосинтетисаног лиганда (*O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида) на раст и метастазирање мишјег карцинома дојке и меланома“, на основу свега наведеног сматра да је истраживање у оквиру дисертације засновано на савременим научним сазнањима и да је адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата *mr ph* Милене Јуришевић, урађена под менторством проф. др Гордане Радосављевић, представља оригинални научни рад и има научни значај у разумевању утицаја *O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида на прогресију мишјег карцинома дојке и меланома, као и расветљавању његовог потенцијалог механизма остваривања антитуморске активности.

На основу свега изложеног Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, да докторска дисертација под називом „Утицај новосинтетисаног лиганда (*O,O'*-диетил-(*S,S*)-етилендиамин-*N,N'*-ди-2-амино-(3-циклохексил)пропаноат дихидрохлорида) на раст и метастазирање мишјег карцинома дојке и меланома“ кандидата *mr ph* Милене Јуришевић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

## ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

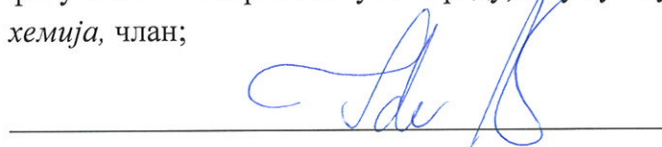
1. Проф. др Иван Јовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области *Микробиологија и имунологија* и *Онкологија*, председник



2. Проф. др Гордана Радић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска хемија*, члан;



3. Проф. др Тибор Сабо, редовни професор редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област *Опита и неорганска хемија*, члан;



У Крагујевцу, 15.10.2018. године