

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ -  
БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА**

На IX редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 13.07.2021. године, на основу молбе ментора, Биљане Божић Недељковић, редовног професора Биолошког факултета Универзитета у Београду, и Љубице Хархаји Трајковић, научног саветника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ - Института од националног значаја за Републику Србију, Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Милице Ђ. Косић**, истраживача сарадника Института за микробиологију и имунологију Медицинског факултета Универзитета у Београду, под насловом: „**Антитуморски ефекат инхибиције гликолизе у комбинацији са пермеабилizацијом лизозома и супресијом оксидативне фосфорилације**“, у саставу:

1. др Биљана Божић Недељковић, редовни професор, Универзитет у Београду-Биолошки факултет
2. др Љубица Хархаји Трајковић, научни саветник, Универзитет у Београду-Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ - Институт од националног значаја за Републику Србију
3. др Верица Пауновић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду-Медицински факултет

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње **Милице Ђ. Косић** и Наставно-научном већу Универзитета у Београду – Биолошког факултета подноси следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**Општи подаци о докторској дисертацији**

Докторска дисертација **Милице Ђ. Косић** под насловом „**Антитуморски ефекат инхибиције гликолизе у комбинацији са пермеабилizацијом лизозома и супресијом оксидативне фосфорилације**“, обухвата укупно 132 страница. Нумерисани део докторске дисертације садржи 120 страница и подељен је на **седам поглавља**: **Увод** (13 страница), **Циљ истраживања** (1 страница), **Материјал и методе** (15 страница), **Резултати** (46 странице), **Дискусија** (10 страница), **Закључци** (1 страница), **Литература** (24 странице). Дисертација садржи 78 слика (7 слика у поглављу Увод, 69 слика у поглављу Резултати и 2 слике у поглављу Дискусија). Поглавље **Литература** садржи 303 библиографске

јединице. Ненумерисани део докторске дисертације обухвата насловну страницу на српском и енглеском језику, страницу са информацијама о менторима и члановима Комисије, страницу са информацијама где је урађен експериментални део докторске дисертације, захвалницу, посвету, сажетак на српском и енглеском језику, и садржај који се налазе на почетку дисертације. Такође, ненумерисани део докторске дисертације на свом крају обухвата списак скраћеница, биографију аутора, изјаву о ауторству, изјаву о истовестности електронске и штампане верзије докторског рада као и изјаву о коришћењу.

## **Анализа докторске дисертације**

Предмет докторске дисертације **Милице Ђ. Косић** је испитивање антимеланомског и антиглиомског ефекта две комбиноване антитуморске терапије којима је заједничка инхибиција гликолизе. У првом делу дисертације инхибитор гликолизе 2-дезокси-D-глукоза (2DG) је комбинован са супресором оксидативне фосфорилације ротеноном (ROT), а у другом делу дисертације са лизозомалним детерџентом N-додецил-имидазолом (NDI).

У поглављу **Увод** описан је процес туморогенезе и поремећаја који се налазе у основи процеса неопластичне трансформације нормалних ћелија. Приказано је како се тумори деле према пореклу, начину раста и прогнози болести, са детаљнијим описом настанка тумора меланома, најчешћег малигног тумора коже, и глиома, најчешћег тумора мозга. Описане су и терапије које се тренутно користе у лечењу меланома и глиома. Даље су детаљно представљени типови ћелијске смрти који могу бити индуковани применом различитих антитуморских терапија (апоптоза, некроза, некроптоза, фероптоза, аутофагија, лизозомална ћелијска смрт). Након тога укратко су представљене особности енергетског метаболизма туморских ћелија. Прво је приказана аеробна гликолиза, којом туморске ћелије преференцијално стварају енергију. Посебно је описана улога ензима хексокиназе у гликолизи, а затим је објашњена структура и улога њеног инхибитора 2DG. 2DG се налази у бројним клиничким испитивањима за антитуморску терапију. У досадашњим истраживањима је показано да су дејства 2DG ограничена када се примењује самостално, док у комбинацији са неким антитуморским лековима снажно појачава антиканцерске ефекте тих других терапијских агенаса. Након тога, представљена је и синтеза енергије оксидативном фосфорилацијом, која такође може бити појачана у неким ћелијама канцера. Такође, детаљно су наведене особине ротенона, инхибитора комплекса I респираторног ланца у митохондријама. У другом делу увода описане су промене у грађи и функцији лизозома карактеристичне за туморске ћелије. Познато је да туморске ћелије имају велике нестабилне лизозоме богате хидролитичким ензимима, што промовише њихов инвазивни раст, ангиогенезу и отпорност на лекове. Приказане особине N-додецилимидазола, лизозомотропног једињења са својствима детерџента, које због свог дугог угљоводоничног ланца и умерено базних особина дифундује кроз мембрану

лизозома. Унутар лизозома, у средини ниске рН, NDI постаје протонован и заробљен, што доводи до пермеабилитетне мембране лизозома и изливања хидролитичких ензима у цитоплазму, а затим и до лизозомалне ћелијске смрти. Туморске ћелије имају појачану гликолизу, али уколико се она супримира енергију синтетишу оксидативном фосфорилацијом. Антитуморски потенцијал истовремене инхибиције гликолизе и оксидативне фосфорилације показан је у претходним студијама, али његови механизми нису у потпуности разјашњени. Са друге стране, антитуморски ефекти инхибиције гликолизе у комбинацији са дестабилизацијом увећаних фрагилних лизозома туморских ћелија до сада нису испитивани.

У поглављу **Циљеви истраживања** наведена су три конкретна циља:

1. Испитати какав утицај имају инхибитор гликолизе 2DG и инхибитор оксидативне фосфорилације ротенон, односно 2DG и лизозомални детерцент NDI, самостално и у комбинацији на вијабилитет и пролиферацију ћелија меланома и глиома *in vitro*.
2. Испитати који тип смрти туморских ћелија индукује 2DG самостално или у комбинацији са ротеноном или NDI *in vitro*.
3. Испитати који унутарћелијски механизми су одговорни за смрт туморских ћелија индуковану 2DG самостално или у комбинацији са ротеноном или NDI *in vitro*.

У поглављу **Материјал и методе** наведене су ћелијске линије коришћене у истраживањима, описане су примењене експерименталне процедуре и технике као и начин обраде резултата. У истраживањима су коришћене следеће ћелијске линије: ћелијска линија мишјег меланома В16 и хуманог глиома U251. Детаљно су описани услови одржавања ћелија у култури, као и експериментални третмани туморских линија. Утицај комбинованих третмана на вијабилитет и пролиферацију туморских ћелија испитиван је колориметријским тестовима МТТ и кристал виолет, док је цитотоксичност третмана испитивана мерењем ослобађања ензима лактат дехидрогеназе из ћелија (LDH тестом). Ефекти третмана на морфологију и пролиферацију ћелија у култури утврђени су коришћењем фазно контрастног микроскопа. Применом математичких формула испитиван је ефекат комбинованих третмана у односу на појединачне третмане. Утврђивање типа ћелијске смрти (апоптоза, некроза, некроптоза, аутофагија и лизозомална ћелијска смрт) одређивани су проточном цитофлуориметријом уз употребу одговарајућих флуоресцентних боја и имуноблот техником. Проточном цитофлуориметријом испитивана је активација каспаза, промена мембранског потенцијала митохондрија и присуство реактивних кисеоничних врста применом адекватних флуоресцентних боја. Улога оксидативног стреса у антитуморском деловању потврђена је коришћењем одговарајућих антиоксиданаса. Електронском микроскопијом испитивана су оштећења митохондрија и присуство аутофагних вакуола. Утицај комбинованих третмана на продукцију АТФ у туморским ћелијама испитиван је коришћењем АТФ комерцијалног

кита. Коначно, применом имуноблот анализе, фармаколошке и генетске инхибиције, испитиване су улоге и активности сигналних молекула укључених у смрт и преживљавање туморских ћелија.

У поглављу **Резултати** експериментално добијени резултати, подељени у два велика потпоглавља у односу на испитиване третмане, систематично и јасно су представљени у виду 69 слика, које прати текстуално објашњење. У првом потпоглављу представљени су резултати добијени у експериментима у којима је инхибитор гликолизе 2DG комбинован са супресором оксидативне фосфорилације ROT. Испитивањем антитуморског ефеката 2DG и ROT, самостално у комбинацији, на В16 и U251 ћелијама, кристал виолет тестом је показано да сви третмани смањују број живих ћелија на дозно-зависан начин, али да комбинивани третман има најјачи антитуморски ефекат. LDH тест је показао да комбиновани третман индукује значајну цитотоксичност, док појединачни третмани нису токсични. Математичком анализом је утврђено да 2DG и ROT синергизују у убијању В16 и U251 ћелија. Са друге стране, показано је да комбиновани третман не убија примарне мезенхималне стем ћелије (MSC). Светлосном микроскопијом утврђено је да је морфологија ћелија изложених појединачним третманима у великој мери очувана, док су се ћелије изложене комбинованим третманом смањиле, заокружиле, одлепиле од подлоге, изгубиле карактеристичан полигонални облик и дефинисане ивице. Анализе на проточном цитофлуориметру су након бојења ћелија annexin V-FITC и 7AAD реагенсима показале да 2DG+ROT третман индукује некрозу, а не апоптозу. Испитивањем ћелијског циклуса у фиксираним туморским ћелијама обојеним пропидијум јодидом утврђено је да комбиновани третман не индукује фрагментацију ДНК, која карактерише апоптозу. Електронском микроскопијом је показано да је структура ћелијских компоненти у потпуности очувана у ћелијама третираним самостално са 2DG и ротеноном, док у ћелијама изложеним комбинованом третману долази до дезинтеграције ћелијске мембране и смањења електронске густине цитоплазме, односно до морфолошких промена карактеристичних за некрозу. Проточном цитофлуориметријском анализом ћелија обојених пан-каспазним инхибитором ApoStat показано је да 2DG+ROT индукује временски зависну активацију каспаза. Анализом ћелија флуоресцентно обележених инхибиторима каспаза-8 и -9 показано је да комбиновани третман, за разлику од појединачних, индукује значајну активацију ових иницијаторских каспаза. Имуноблот анализа је показала да 2DG+ROT доводи до активације каспазе-3, егзекуторске каспазе коју активирају и каспаза-8 и каспаза-9, али да комбиновани третман не стимулише протеолитичко исецање PARP протеина, што је сугерисало да не долази до потпуне апоптозе, већ да се започета апоптоза завршава некрозом. Применом инхибитора каспаза Q-VD-OPh и ZVAD-FMK и инхибитора некроптозе некростатина показано је да апоптоза и некроптоза не учествују у цитотоксичном деловању комбинованог третмана. Цитофлуориметријска анализа ћелија обојених флуоресцентном бојом JC-1 је показала да комбиновани третман индукује деполаризацију митохондрија, али да је она мања од деполаризације коју индукује сам ротенон. Такође, LDH тестом је утврђено да инхибитор

митохондријске деполаризације циклоспорин А не редукује цитотоксични ефекат комбинованог третмана, па се могло закључити да деполаризација митохондрија није у основи цитотоксичности 2DG+ROT третмана. Електронском микроскопијом је утврђено да комбиновани третман индукује оштећење митохондрија. Применом MitoSOX Red флуоресцентне боје је показано да комбиновани третман индукује продукцију супероксида у митохондријама. Коришћењем антиоксиданса витамина Е потврђено је да супероксид учествује у цитотоксичном деловању 2DG+ROT. Имуноблот методом је показано да комбиновани третман индукује ослобађање цитохрома ц из митохондрија у цитоплазму. Будући да се и супероксид и цитохром ц отпуштају из митохондрија кроз исти волтажно зависни анијонски канал VDAC, испитивано је да ли комбиновани третман утиче на његову активност. Ефекат комбинованог третмана на VDAC канал је посредно испитиван одређивањем локализације ензима хексокиназе II, који поред улоге у гликолизи индукује стабилизацију и затварање VDAC канала. Имуноблот анализом различитих ћелијских фракција је показано да третман 2DG+ROT стимулише ослобађање хексокиназе II са митохондрија у цитоплазму, што указује да долази до отварања VDAC канала. Примена инхибитора VDAC канала DIDS је значајно умањила цитотоксично деловање 2DG+ROT третмана, чиме је потврђено да отварање VDAC канала учествује у индукцији некрозе. Затим је мерењем хемилуминисценце помоћу АТФ кита показано да комбиновани третман индукује снажну енергетску деплецију. У наредном сету експеримената је коришћењем инхибитора гликолизе јодоацетата и медијума без глукозе, као и инхибитора оксидативне фосфорилације MPP+ и CCCP, потврђено да су управо инхибиција гликолизе и оксидативне фосфорилације одговорне за антитуморски ефекат 2DG+ROT третмана. Коришћењем фармаколошких инхибитора аутофагије бафиломицина А1, хлорокина и амонијумхлорида, као и инхибирањем аутофагије малим интерферирајућим РНК (siRNA), које супримирају експресију кључних аутофагних протеина LC3 и беклина-1, показано је да цитотоксични ефекат 2DG+ROT третмана не зависи од аутофагије. Анализама на проточном цитофлуориметру ћелија обојених акридин-оранжом је показано да комбиновани третман смањује број киселих везикула у В16 ћелијама, а имуноблот методом да инхибира експресију проаутофагног молекула беклина-1 и аутофагозомима асоцирану конверзију LC3 протеина, а да не утиче на концентрацију супстрата аутофагне протеолизе р62 протеина. Осим тога, анализом аутофагног флукса је показано да комбиновани третман значајно смањује ниво LC3-II протеина у ћелијама у којима је била инхибирана његова разградња бафиломицином А1, што указује на инхибицију синтезе LC3 и супресију аутофагије. Дакле, насупротив очекивањима закључили смо да инхибиција аутофагије не утиче на цитотоксичност комбинованог третмана и да комбиновани третман не индукује већ инхибира аутофагију. Будући да 2DG+ROT третман индукује снажну енергетску деплецију испитивана је активност аденозин монофосфатом активираних протеин киназа (АМПК), основног енергетског сензора у ћелијама, и показано је да долази до њене активације. Генетска супресија АМПК је додатно повећала антитуморски ефекат 2DG+ROT, сугеришући да активација АМПК доприноси повећању вијабилности

туморских ћелија. У складу са активацијом AMPK, имуноблот анализа је показала да 2DG+ROT инхибира активност његовог супстрата механистичке мете комплекса рапамицина 1 (mTORC1), који је познати трансдуктор сигнала преживљавања и инхибитор аутофагије. Међутим, активатор mTORC1, леуцин није смањио токсично деловање комбинованог третмана, чиме је сугерисано да цитотоксични ефекат 2DG+ROT не зависи од инхибиције mTORC1. Имуноблот методом је показано да 2DG+ROT не утиче на активацију MAP киназе ERK, али да активира JNK. Применом фармаколошког инхибитора JNK киназе SP600125, показано је да активација JNK учествује у токсичном деловању комбинованог третмана. Дакле, комбиновани третман стимулише цитотоксичну активност JNK MAP киназе, ослобађање хексокиназе II из спољне мембране митохондрија и последично отварање VDAC канала кроз који супероксид и цитохром c излазе из митохондрија. Цитохром c затим активира каспазе, али услед потпуне деплеције енергије у ћелијама тумора не долази до фрагментације ДНК и апоптоза прелази у некрозу.

У другом потпоглављу представљени су резултати добијени у експериментима у којима је инхибитор гликолизе 2DG комбинован са лизозомалним детергентом NDI. Кристал виолет тестом показано је да 2DG и NDI на дозно-зависни начин смањују вијабилност U251 и B16 туморских ћелија. LDH тест је показао да за разлику од појединачних третмана комбиновани третман испољава значајну цитотоксичност. Математичком анализом је утврђено да 2DG и NDI синергизују у убијању U251 и B16 ћелија. За разлику од туморских ћелија, примарни астроцити су скоро неосетљиви на третман 2DG+NDI. Светлосном микроскопијом је утврђено да појединачни третмани нису значајно изменили морфологију ћелија, док је комбиновани третман довео до смањења, заокругљивања и одлепљивања ћелија од подлоге, губитка полигоналног облика и дефинисаних ивица, што су све морфолошке одлике ћелијске смрти. Анализе на проточном цитофлуориметру ћелија обојених annexin V-FITC и пропидијум јодидом показале су да 2DG+NDI индукује некрозу, а не апоптозу туморских ћелија. Анализом ћелија обојених пан-каспазним инхибитором Apoptat показано је да комбиновани третман не индукује активацију каспаза. Електронском микроскопијом је утврђено да је у ћелијама изложеним комбинованом третманом дошло до дезинтеграције ћелијске мембране и губитка електронске густине цитоплазме, што су одлике некротичне смрти. У наредним експериментима је испитивањем експресије протеина и применом одговарајућих фармаколошких и генетских инхибитора показано да апоптоза, фероптоза и некроптоза нису укључене у антитуморско деловање 2DG+NDI. Анализама на проточном цитофлуориметру ћелија обојених JC-1, MitoTracker Red CMXRos, MitoSOX Red и DHR флуоресцентним бојама је показано да 2DG и NDI синергистички индукују деполаризацију митохондрија и оксидативни стрес у U251 и B16 ћелијама. Да реактивне кисеоничне врсте доводе до липидне пероксидације мембране показано је помоћу MDA теста. Пошто је антиоксиданс витамин Е заштитио ћелије од комбинованог третмана, закључили смо да оксидативни стрес има битну улогу у индукцији ћелијске смрти 2DG+NDI. Анализе на електронском микроскопу су показале да у ћелијама третираним са

2DG, NDI или оба агенса истовремено долази до појаве митохондрија са тамним, кондензованим матриксом и дилатираним кристама, односно до реверзибилног оштећења митохондрија. Осим тога, комбиновани третман је значајно повећао број набубрелих митохондрија са просветљеним матриксом и дисконтинуираним кристама, што су морфолошке одлике иреверзибилног оштећења митохондрија. Примећено је да сам NDI, нарочито у комбинацији са 2DG, доводи до појаве просветљених везикула налик дилатираним лизозомима. NDI је индуковао значајно повећање концентрације аутофагног LC3-II протеина, као и повећан број везикула које подсећају на аутофагозоми. Међутим, имајући у виду да је NDI лизозомални детерцент и да се LC3-II разграђује у аутофаголизозомима, закључили смо да ове промене потичу од инхибиције аутофагне протеолизе, а не од индукције аутофагије. Са друге стране, повећање LC3-II индуковано 2DG у присуству NDI, вероватно показује стварну индукцију аутофагије, које се јасно уочава у условима инхибиције аутофагне протеолизе. Међутим, пошто ни фармаколошка ни генетска инхибиција аутофагије нису утицале на вијабилитет ћелија третираних 2DG, закључили смо да модулација аутофагије није битна за цитотоксично деловање комбинованог третмана. Коришћењем акридин-оранж и LysoTracker Green лизозомотропних флуорохрома показано је да сам NDI доводи до пермеабилитет мембране лизозома (LMP) и смањења киселог садржаја лизозома, а примена 2DG је додатно појачала ефекат NDI. Антиоксиданс витамин Е је смањио индуковани LMP, чиме је потврђено да оксидативни стрес учествује у стимулацији пермеабилитет мембране лизозома. Применом инхибитора лизозомалних ензима катепсина Е64d потврђено је да катепсини учествују у индукцији ћелијске смрти. Индуктор LMP и инхибитор аутофагије хлорокин је попут NDI синергизовао са 2DG, за разлику од супресора аутофагије бафиломицина А1, који нема способност индукције LMP, што је сугерисало да је управо LMP одговоран за цитотоксичност 2DG+NDI. NDI је осим са 2DG синергизовао са другим инхибиторима гликолизе јодоацетатом и натријумфлуоридом, као и са медијумом без глукозе, па смо закључили да је инхибиција гликолизе битна за антитуморски ефекат комбинованог третмана. Коришћењем кита за детекцију АТФ показано је да 2DG и NDI синергизују у енергетској деплецији. У складу са смањењем АТФ, имуноблот методом је потврђено да комбиновани третман доводи до активације АМПК. Дакле, на основу приказаних резултата могли смо да закључимо да NDI индукује пермеабилитет мембране лизозома, излазак катепсина, оксидативни стрес, деполаризацију митохондрија и супресију оксидативне фосфорилације, што у комбинацији са инхибицијом гликолизе индукованом 2DG, доводи до потпуне енергетске деплеције и некрозе туморских ћелија.

У поглављу **Дискусија** добијени резултати су на критички начин анализирани и повезани са ранијим истраживањима групе у оквиру које је кандидаткиња урадила експериментални део докторске дисертације и тумачени у контексту досадашњих података из литературе на основу 303 библиографске јединице који су у вези са предметом истраживања којим се кандидаткиња бави у својој дисертацији. Кандидаткиња је показала

самосталност и способност у тумачењу добијених резултата и разумевање њиховог значаја за потенцијалну антимеланомску и антиглиомску терапију.

У поглављу **Закључци** систематично су сумирани резултати на основу којих су изведени закључци у складу са постављеним циљевима ове докторске дисертације.

Поглавље **Литература** садржи 303 библиографске јединице. Наведени литературни извори су од значаја за област којом се бави ова докторска дисертација, правилно су и на одговарајућим местима цитирани у дисертацији.

## Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

### Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Kosic M**, Paunovic V, Ristic B, Mircic A, Bosnjak M, Stevanovic D, Kravic-Stevovic T, Trajkovic V, Harhaji-Trajkovic L. (2021). 3-Methyladenine prevents energy stress-induced necrotic death of melanoma cells through autophagy-independent mechanisms. *Journal of Pharmacological Sciences*, 147(1), 156-167.

<https://doi.org/10.1016/j.jphs.2021.06.003>

Категорија часописа: **M22 (IF 3.337)**

Линк ка публикацији на интернету:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1347861321000591>

2. **Kosic M**, Arsikin-Csordas K, Paunovic V, Firestone RA, Ristic B, Mircic A, Petricevic S, Bosnjak M, Zogovic N, Mandic M, Bumbasirevic V, Trajkovic V, Harhaji-Trajkovic L. (2016). Synergistic Anticancer Action of Lysosomal Membrane Permeabilization and Glycolysis Inhibition. *The Journal of biological chemistry*, 291(44), 22936–22948.

<https://doi.org/10.1074/jbc.M116.752113>

Категорија часописа: **M21 (IF 4.573)**

Линк ка публикацији на интернету:

<https://www.jbc.org/content/291/44/22936>

### Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Kosic M**, Paunovic V, Ristic B, Mircic A, Bosnjak M, Stevanovic D, Mandic M, Stamenkovic M, Janjetovic K, Vucicevic L, Trajkovic V, Harhaji-Trajkovic L. Synergistic anticancer effect of glycolysis inhibition and oxidative phosphorylation suppression. SFRR-E, Annual meeting, 15-18 June 2021, Belgrade, Serbia, Abstract book, p. 203. (**M34**)



2. Paunovic V, **Kosic M**, Ristic B, Bosnjak M, Stevanovic D, Misirkic Marjanovic M, Mandic M, Mircic A, Trajkovic V, Harhaji-Trajkovic L. 3-methyladenine protects melanoma cells against energy stress-induced necrosis by autophagy-independent decrease in oxidative stress and partial involvement of JNK. SFRR-E, Annual meeting, 15-18 June 2021, Belgrade, Serbia, Abstract book, p. 221. (M34)
3. Misirkic Marjanovic M, Vucicevic L, **Kosic M**, Paunovic V, Arsikin-Csordas K, Ristic B, Maric N, Bosnjak M, Zogovic N, Mandic M, Kravic-Stevovic T, Martinovic T, Ciric D, Mircic A, Petricevic S, Bumbasirevic V, Harhaji-Trajkovic L, Trajkovic V. Dual role of mitochondrial damage in anticancer and antipsychotic treatment. MiP2019, 14th Conference on Mitochondrial Physiology: Mitochondrial function: changes during life cycle and in noncommunicable diseases - COST MitoEAGLE perspectives and MitoEAGLE WG and MC Meeting, 13-16 October 2019, Belgrade, Serbia. (M34)
4. Paunovic V, **Kosic M**, Arsikin-Csordas K, Firestone R A., Ristic B, Mircic A, Petričević S, Bošnjak M, Zogovic N, Mandic M, Bumbaširevic V, Trajkovic V, Harhaji-Trajkovic L. Synergistic antiglioma action of lysosomal membrane permeabilization and glycolysis inhibition. FENS, Regional Meeting, 10-13 July 2019, Belgrade, Serbia, Abstract book, p. 213. (M34)
5. **Kosic M**, Arsikin-Csordas K, Paunovic V, Firestone RA, Ristic B, Mircic A, Petricevic S, Bosnjak M, Zogovic N, Bumbasirevic V, Trajkovic V, Harhaji-Trajkovic L. Synergistic anticancer action of lysosomal membrane permeabilization and glycolysis inhibition. Third Congress redox medicine: Reactive Species Signaling, Analytical Methods, Phytopharmacy, Molecular Mechanisms of Disease, 25-26 September 2015, Belgrade, Serbia, Abstract book p.71. (M34)

### Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата **Милице Ђ. Косић**, Б3026/2014, послата је дана 13.07.2021. године на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности ментори су добили дана 13.07.2021. године.

Резултати електронске провере ове докторске дисертације показују да индекс подударности износи 19%. Међутим, назначени делови текста се у 7% (2455 речи) подударују са подацима на сајту vbs.rs, у 6% (2068 речи) подударују са подацима на сајту fedorabg.bg.ac.rs, у 3% (1091 реч) подударују са подацима на сајту nardus.mpn.gov.rs, док

сви остали индекси подударности износе мање од 1%. Назначени делови текста се односе на лична имена, опште појмове и нашироко коришћене синтагме, називе ћелијских линија, називе реагенаса, скраћенице, коришћење стандардних израза из области истраживања, као и коришћења кратких фраза уобичајених у датој области. Наведена преклапања краћих делова појединих различитих реченица нису повезана и не чине смислену целину.

С обзиром на наведено, а у складу са чланом 9. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата **Милице Ђ. Косић**, под насловом **”Антитуморски ефекат инхибиције гликолизе у комбинацији са пермеабилizацијом лизозома и супресијом оксидативне фосфорилације“**, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

### **Мишљење и предлог Комисије**

Докторска дисертација **Милице Ђ. Косић**, под насловом **„Антитуморски ефекат инхибиције гликолизе у комбинацији са пермеабилizацијом лизозома и супресијом оксидативне фосфорилације”**, представља оригиналан рад који даје значајан научни допринос областима туморске биологије и имунологије, са нагласком на стварање нових терапијских приступа у лечењу меланома и глиома.

Дисертација је урађена у складу са принципима научно-истраживачког рада и садржи све потребне елементе релевантне за овакав тип рада. Јасно дефинисани циљеви докторске дисертације су успешно реализовани применом адекватно одабраних метода истраживања. Добијени резултати у овој докторској дисертацији откривају да два комбинована третмана којима је заједничка компонента инхибитор гликолизе 2DG испољавају снажно антитуморско деловање на ћелије глиома и меланома. Налази ове докторске тезе су показали да иако су ротенон и NDI два потпуно различита једињења, њихово антитуморско деловање у комбинацији са 2DG је имало сличне унутарћелијске механизме. Оба комбинована третмана су била токсична према хуманим глиомским U251 и мишијим меланомским B16 ћелијама, а нетоксична према примарним ћелијама. Резултати ове дисертације такође показују да је антитуморско деловање и 2DG+ROT и 2DG+NDI посредовано некрозом, потпуно независно од апоптозе, некроптозе, фероптозе и аутофагије. Важно је напоменути да будући да је инциденца ових тумора у сталном

порасту, и да за њих још увек не постоји ефикасна терапија, резултати ове дисертације снажно подржавају даља истраживања антиглиомских и антимеланомских третмана који се базирају на истовременој инхибицији гликолизе и оксидативне фосфорилације, као и на истовременој инхибицији гликолизе и дестабилизације лизозома, као новим терапијским приступима. Резултати представљени у овој дисертацији су објављени у међународним часописима у оквиру два оригинална рецензирана научна рада.

Имајући у виду све наведено, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри **Милицу Ђ. Косић** јавну одбрану докторске дисертације под насловом „**Антитуморски ефекат инхибиције гликолизе у комбинацији са пермеабилитетом лизозома и супресијом оксидативне фосфорилације**”.

У Београду, 16.07.2021. године

#### КОМИСИЈА:

---

др Биљана Божић Недељковић,  
редовни професор,  
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

---

др Љубица Хархаји Трајковић,  
научни саветник,  
Универзитет у Београду -  
Институт за биолошка истраживања “Синиша Станковић”-  
Институт од националног значаја за Републику Србију

---

др Верица Пауновић,  
виши научни сарадник,  
Универзитет у Београду-Медицински факултет