

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
У КРАГУЈЕВЦУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ПРИМЉЕНО:		30. 09. 16.	
Орг. јед.	Број	Прилог	Вредност
05	10620		

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

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној дана 13.07.2016. године, одлуком IV-03-720/25 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом: „Утицај сигналног пута IL-33/ST2 на развој некрозе код карцинома дојке“ кандидата др Милоша З. Милосављевића у следећем саставу:

- 1. Проф. др Миодраг Ј. Лукић**, професор емеритус Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник.
- 2. Проф. др Славица Кнежевић Ушај**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област Патолошка анатомија, члан.
- 3. Доц. др Гордана Радосављевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију др Милоша З. Милосављевића 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 Милоша З. Милосављевића под називом „Утицај сигналног пута IL-33/ST2 на развој некрозе код карцинома дојке“, урађена под менторством доц. др Ивана Јовановића, доцента Факултета медицинских наука у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Онкологија, представља оригиналну студију која се бавила испитивањем улоге и значаја IL-33/ST2 сигналног пута на развој некрозе у карциному 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: неоплазма дојке, IL-33, IL-33R, неангиогенеза и некроза (breast neoplasm, IL-33, IL-33R, neoangiogenesis и necrosis) нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. На основу тога, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Милоша З. Милосављевића под називом „Утицај сигналног пута IL-33/ST2 на развој некрозе код карцинома дојке“, представља резултат оригиналног научног рада.

Карцином дојке је друго малигно обољење по учесталости у свету и најчешћи карцином код жена. Некроза је саставни део биологије хуманих карцинома и врста ћелијске смрти, која укључује велику популацију ћелија. Ранија истраживања су дефинисала некрозу као параметар лоше прогнозе, која се развија у туморима високе пролиферативне активности, а као последица инфламације, као стимулуса на туморски раст. Најновији подаци сугеришу да некроза након онколошког лечења може имати сасвим другачију улогу, и представљати исход доброг терапијског одговора и важан модулатор имунског система. Интерлеукин-33 (IL-33) је нови члан IL-1 фамилије цитокина. Први пут је описан као нуклеарни фактор у венулама високог ендотела лимфног ткива који је повезан са хроматином и регулише транскрипцију, тако да истовремено делује и као цитокин и као нуклеарни фактор. Главни извор IL-33 су ендотелне, епителне и ретикуларне фибробластне ћелије. Како се у екстрацелуларни простор ослобађа из некротичних ћелија, може да има улогу „алармина“ који обавештава имунски систем да постоји деструкција ткива. Поред тога, недавне студије су показале да извор овог цитокина могу да буду и живе ћелије. Недавно је показано да је IL-33 специфичан лиганд за ST2 рецептор (ST2L). ST2L налази се на површини Th2 лимфоцита, макрофага, NK, NKT ћелија, мастоцита, базофилних и еозинофилних гранулоцита. Интеракцијом са хетеродимерним рецепторским комплексом састављеним од ST2L молекула и помоћног протеина IL-1R (енгл. IL-1R accessory protein, IL-1RAcP), IL-33 активира транскрипциони фактор NF-κB

(енгл. nuclear factor-  $\kappa$ B) и MAP киназе (енгл. mitogen-activated protein kinases), и на тај начин индукује продукцију Th2 цитокина. Међутим, локална улога и значај активације сигналног пута IL-33/ST2 у ткиву карцинома дојке још увек није разјашњена.

Досадашње студије су показале да је IL-33/ST2 сигнални пут повезан са туморским растом и настанком метастаза. Супротно, искључивање овог сигналног пута подстиче продукцију проинфламаторних цитокина и успорава раст тумора и смањује метастатски потенцијал. IL-33/ST2 осовина промовише раст и метастазирање тумора појачавајући акумулацију имуносупресивних и лимфоидних ћелија урођене имуности. Неке студије су показале да је експресија IL-33 битан фактор за разликовање здравог од малигног ткива као и да је експресија овог маркера различита између тумора ниског и високог градуса.

Ова студија показује да је делеција гена за ST2 и следствена блокада IL-33/ST2 сигналног пута праћена појачаном некрозом у ткиву примарног тумора уз значајно спорији раст што је могућа последица смањене продукције проангиогених фактора попут IL-33 и VEGF-а. Резултати добјени на експерименталном моделу карцинома дојке су потврђени испитивањем материјала узетог од пацијената. Истраживање на хуманом материјалу је показало да тумори са детектабилном некрозом имају смањену микроваскуларну густину и експресију VEGF-а у перинекротичном рубу туморског ткива што указује на перзистентну хипоксију у овој туморској зони. Карциноми дојке који су на основу стандардних клиничкопатолошких параметара сврстани у прогностички неповољну групу показали су смањену експресију IL-33 и ST2 у ћелијама тумора уз појачану експресију у ћелијама туморске строме. Овакав резултат указује да ћелије туморске строме могу бити важан извор IL-33 а самим тим и фактор којим сигнални пут IL-33/ST2 остварује своју локалну улогу у ткиву карцинома дојке.

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

#### **A. Лични подаци**

Милош (Зоран) Милосављевић је рођен у Крагујевцу 14.04.1977. године. Дипломирао је 2005. године на Медицинском факултету, Универзитета у Крагујевцу чиме је стекао звање доктора медицине. Академске докторске студије на Медицинском факултету у Крагујевцу уписао је школске 2005/2006. године, изборно подручје Клиничка и експериментална хирургија а усмени докторски испит је положио у мају 2008. године. У периоду од маја 2007. до октобра 2010. године ангажован је као инструктор практичне наставе на предметима Патолошка анатомија и Статистика у фармацији, Медицинског факултета у Крагујевцу. Од децембра 2009. године запослен је у Служби за патолошкоанатомску дијагностику, Клиничког центра у Крагујевцу. Специјалистичке студије из области Патолошке анатомије започео је 2012. године на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. На пољу свог континуираног стручног усавршавања др Милош З. Милосављевић је био активни учесник на бројним међународним и

регионалним конгресима посвећеним тематици у области патологије. Учесник је јуниор пројеката Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Члан је Европског удружења патолога, Удружења патолога и цитолога Србије и Српског лекарског друштва.

Говори енглески, служи се немачким језиком и познаје рад на рачунару.

Др Милош З. Милосављевић се активно бави научно-истраживачким радом у Служби за патологију, Клиничког центра у Крагујевцу и Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија, Факултета медицинских наука у Крагујевцу. Аутор је и коаутор више радова објављених у часописима од међународног и националног значаја са рецензијом. Рецензент је часописа *Yonsei Medical Journal*, *World Journal of Surgical Oncology* и *Obstetrics and Gynaecology Cases-Reviews*.

Тема докторске дисертације под називом „Утицај сигналног пута IL-33/ST2 на развој некрозе код карцинома 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)**

Научни радови објављени у целини у часописима :

1. **Milosavljevic M**, Jovanovic I, Pejnovic N, Mitrovic S, Arsenijevic N, Simovic Markovic B and Lukic ML. Deletion of IL-33R attenuates VEGF expression and enhances necrosis in mammary carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7(14): 18106-18115. **M21=8 бодова**
2. Krstic V, **Milosavljevic M**, Mitrovic S, Azanjac G, Knezevic M, Konstantinovic V, Nedovic J. Jejuno-gastric intussusception as complication of gastric surgery. *Cent Eur J Med* 2012; 7(4): 497-502. **M23=3 бода**
3. Protrka Z, Arsenijevic S, Dimitrijevic A, Mitrovic S, Stankovic V, **Milosavljevic M**, Kastratovic T, Djuric J. Co-overexpression of bcl-2 and c-myc in uterine cervix carcinomas and premalignant lesions. *Eur J Histochem* 2011; 55(1): e8. **M23=3 бода**
4. **Milosavljevic M**, Mitrovic S, Vujadinovic M, Acimovic Lj, Mrvic S, Milisavljevic S. Giant dumbbell tumor of the posterior mediastinum. *Vojnosanit Pregl* 2009; 66(11): 909-913. **M23=3 бода**

#### **2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају.**

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 Милоша З. Милосављевића написана је на 167 страна и садржи следећа поглавља: увод, циљеве истраживања, материјал и методе, резултате, дискусију, закључак и литературу.

У уводном делу кандидат је јасно, прецизно и свеобухватно, користећи најсавременије литературне податке, изложио досадашња сазнања о патогенези туморске некрозе и неоангиогенезе, са посебним освртом на прогностички и предиктивни значај у карциному дојке али и малигним болестима других локализација. У даљем делу увода наглашене су структурне особине и биолошка функција IL-33 и ST2 молекула, као и њихова улога у карциногенези и антитуморском имунском одговору. Јасно су изложени циљеви и конкретни задаци, при чему је основни циљ да се испита улога сигналног пута IL-33/ST2 у некрози и туморској неоангиогенези у 4T1 индукованом мишијем моделу карцинома дојке уз упоредну анализу на материјалу узетом од пацијената са тумором дојке.

Материјал и методологија рада су подударни са наведеним у пријави дисертације, презентовани су на одговарајући начин и врло прецизно. Детаљно су описане све технике коришћене у студији.

Резултати истраживања систематично су приказани и добро документовани. Делација ST2 гена успорава туморски раст и промовише некрозу у туморском ткиву. Овакви налази указују на нов механизам којим IL-33 утиче на карциногенезу. Показано је да делација гена за ST2 значајно смањује експресију проангиогених фактора попут IL-33 и VEGF-а. Поред тога, присуство некрозе у индукованим туморима дојке је повезано са споријим растом тумора код ST2<sup>-/-</sup> мишева. Резултати добијени анализом туморског ткива узетог од пацијената показали су поклапање са подацима добијеним у експерименталном моделу 4T1 индукованог карцинома дојке. Утврђено је да је појачана некроза у примарном тумору дојке повезана са смањеном експресијом IL-33, ST2 и VEGF-а у туморским ћелијама док је експресија IL-33 и ST2 је позитивно повезана са експресијом VEGF-а у туморским ћелијама.

У поглављу Дискусија анализирани су добијени резултати и поређени са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су опширни, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. Резултати су дискутовани у контексту сличних, различитих, па чак и конфликтних података о улози сигналног пута у инхибицији некрозе и развоју туморске неоангиогенезе у карциному дојке. При томе су наведени ставови из најзначајнијих оригиналних и ревијских научних радова поменуте области.

Литература је адекватна по обиму и садржају. Цитирано је 356 библиографских јединица из домаћих и иностраних стручних публикација.

## **2.5. Научни резултати докторске дисертације**

Најзначајнији резултати истраживања садржани су у следећим закључцима:

1. Делетија гена за IL-33R појачава некрозу у тумору и успорава раст тумора у мишева.
2. Експресија IL-33 у туморским ћелијама карцинома дојке корелира са растом тумора у IL-33R<sup>+/+</sup> мишева и значајно је већа у поређењу са IL-33R<sup>-/-</sup> мишевима.
3. Присуство некрозе у хуманом карциному дојке је праћено смањеном цитоплазматском експресијом IL-33, IL-33R и VEGF у туморским ћелијама.
4. Експресија VEGF-а позитивно корелира са микроваскуларном густином у перинекротичном рубу у хуманом карциному дојке.
5. Експресија IL-33 и IL-33R у туморским ћелијама је у негативној корелацији са експресијом истих белега у ћелијама туморске строме.

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

Резултати овог истраживања по први пут показују да активација сигналног пута IL-33/ST2 игра важну улогу у инхибицији настанка некрозе, односно да његово искључивање резултује појачавањем некрозе у туморском ткиву. IL-33 ослобођен из ћелија захваћених некрозом поспешује експресију VEGF-а у туморским ћелијама перинекротичног руба и појачава неоангиогенезу што се манифестује већом микроваскуларном густином у перинекротичној зони хуманог карцинома дојке. Студија показује додатни механизам којим је IL-33/IL-33R сигнални пут укључен у карциногенезу. Секретован из живих и/или ослобођен из некротичних ћелија, IL-33 се везује за свој рецептор на ендотелним ћелијама и промовише ангиогенезу и продукцију VEGF-а. Резултати показују да атенуација IL-33 може имати терапијски потенцијал промовисањем некрозе која је повезана са смањеном експресијом VEGF-а као снажног проангиогеног фактора.

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

Резултати ове докторске дисертације објављени су у међународном часопису (Oncotarget 2016; 7(14): 18106-18115.), категорије M21 са импакт фактором 5,415.

## ЗАКЉУЧАК


Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Милоша З. Милосављевића под називом „Утицај сигналног пута IL-33/ST2 на развој некрозе код карцинома дојке“, 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 др Милоша З. Милосављевића урађена под менторством доц. др Ивана Јовановића, представља оригинални научни рад и има велики научни и практични значај у разумевању улоге сигналног пута IL-33/ST2 у инхибицији некрозе и појачавању туморске неоангиогенезе.

На основу свега изложеног Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, да докторска дисертација под називом „Утицај сигналног пута IL-33/ST2 на развој некрозе код карцинома дојке“, кандидата др Милоша З. Милосављевића 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.



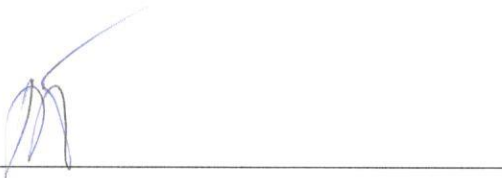
---

2. Проф. др Славица Кнежевић Ушај, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област Патолошка анатомија, члан.



---

3. Доц. др Гордана Радосављевић, доцент Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан.



---

У Крагујевцу, 27.07.2016.године