

| | | | |
|-----------|-----------|----------|--------|
| ПРИМЉЕНО: | | 03.12.18 | |
| Служба: | Број: | Прилог: | Федер: |
| 05 | 14496/3-3 | | |

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАУЧНО-НАСТАВНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-774/33 од 10.10.2018.године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др Жељка Тодоровића, под називом: „**Антитуморски ефекти активних принципа изолованих из *Onosma visianii* на леукемијским лимфоцитима**“

Чланови Комисије су:

1. **проф. др Гордана Радосављевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник
2. **доц. др Ненад Вуковић**, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан
3. **Доц. др Оливера Тарабар**, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан

На основу увида у приложену документацију, комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу:

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Жељко Тодоровић, рођен 16.11.1987. године у Крагујевцу, где је завршио основну и средњу школу „Прва крагујевачка гимназија“ са одличним успехом. Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу уписао је школске 2007/2008. године, а завршио 2013. године са просечном оценом 9.89. Школске 2013/2014. године уписао је Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Клиничка и експериментална интерна медицина. Усмени докторски испит полагао је у јулу 2016. године са оценом 10. У децембру 2015. уписао је

Специјалистичке студије из Интерне медицине. Запослен је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу од децембра 2014. године као сарадник у настави за ужу научну област Интерна медицина, а од јануара 2017. године је у звању истраживач приправник. Од августа 2017. године запослен је у Клиници за хематологију КЦ Крагујевац.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: "Антитуморски ефекти активних принципа изолованих из *Onosma visianii* на леукемијским лимфоцитима"

Предмет: Испитивање антитуморског дејства два шиконинска деривата (*isobutyrylshikonin* и *α-methylbutyrylshikonin*) добијена из биљке *Onosma visianii*, *in vitro* коришћењем BCL1 ћелијске линије мишије леукемије/лимфома и JVM-13 ћелијске линије хумане В-пролимфоцитне леукемије, као и *in vivo* коришћењем експерименталног модела хроничне лимфоцитне леукемије (CLL, од енг. *chronic lymphocytic leukemia*).

Хипотеза:

1. Деривати шиконина добијених из *Onosma visianii* делују цитотоксично на BCL1 и JVM-13 леукемијске ћелије
2. Испитиване супстанце индукују апоптозу леукемијских лимфоцита
3. Испитиване супстанце повећавају релативни однос про- и антиапоптотских молекула, што активира каспазу-3 и уводи ћелије у апоптозу
4. Испитиване супстанце инхибирају експресију гена *Nanog*, *Sox2*, *Oct4*, *c-Myc*, *P53*, *Cdkn1a* и *Cdkn1b* инхибицијом фосфорилације *signal transducer and activator of transcription molecules 3* (STAT3) сигналног пута који регулише транскрипцију ових гена
5. Испитиване супстанце имају антитуморско дејство у анималном моделу CLL код BALB/c мишева

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је објавио рад у целини у часопису М51 категорије у коме је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву теме докторске дисертације:

1. **Todorovic Z**, Jovanovic M, Todorovic D, Petrovic D, Djurdjevic P. Thrombotic thrombocytopenic purpura: etiopathogenesis, diagnostics and basic principles of treatment. *Ser J Exp Clin Res.* 2017;18(1):61-68.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Хронична лимфоцитна леукемија (CLL од енг. *chronic lymphocytic leukemia*) је малигно лимфопролиферативно обољење које настаје пролиферацијом и акумулацијом

клона имунски некомпетентних али морфолошки зрелих В лимфоцита у костној сржи, другим органима и периферној крви. Инциденца CLL је 6.3 за мушкарце и 3.3 за жене на 100.000 људи годишње. Највећа преваленца ове болести је у Европи и то у групи старијих људи са медијаном старости оболелих која износи 70 година. Актуелна терапија CLL се заснива на флударабинским и бендамустинским хемиотерапијским протоколима у комбинацији са моноклонским антителом на гликопротеин CD20. Такође у терапији користи се и инхибитор Брутонове тирозин киназе, моноклонско антитело на гликопротеин CD52 и хлорамбуцил. И поред свих претходно поменутих терапијских модалитета, CLL је и даље неизлечива болест прогресивног тока. Проналажење нових лекова који би успорили или потпуни ерадицирали болест предмет је бројних студија.

Деривати шиконина *isobutyrylshikonin* и *α-methylbutyrylshikonin* предмет су истраживања дужи низ година. До сада је показано да шиконини стимулишу ткивну репарацију и имају антиинфламацијско, антимикробно, антиоксидативно и антитуморско дејство. Антитуморско дејство регистровано је на ћелијским линијама солидних тумора као што су аденокарцином желуца, остеосарком, колоректални карцином и хепатоцелуларни карцином људи. Осим на солидне туморе, доказано је антитуморско дејство и на хематолошке малигнитете као што су мултипли мијелом, хронична мијелоидна леукемија, акутна промијелоцитна леукемија. Механизам њиховог дејства је иницирање апоптозе туморских ћелија различитим механизмима укључујући и инхибицију сигналних путева као што је STAT3. До сада нису рађена истраживања антитуморског дејства шиконина и његових деривата на хроничну лимфоцитну леукемију.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

Овим истраживањем би се евентуално указало на супстанце које би уз додатна претклиничка испитивања биле потенцијална терапија CLL. Такође, планирано истраживање би требало да омогуће боље разумевање сигналних путева који су измењени у малигно трансформисаним лимфоцитима.

Циљ студије

Основни циљ овог истраживања је да се испита антитуморско дејство два шиконинска деривата добијених из биљке *Onosma visianii*, *in vitro* коришћењем BCL1 ћелијске линије мишије леукемије/лимфома и JVM-13 ћелијске линије хумане В-пролимфоцитне леукемије, као и *in vivo* коришћењем експерименталног модела CLL.

У складу са основним циљем поставили би се и следећи експериментални задаци:

1. Испитати потенцијалну цитотоксичност наведених биоактивних супстанци МТТ тестом на ћелијској линији BCL1 и ћелијској линији JVM-13
2. Испитати тип ћелијске смрти леукемијских лимфоцита након апликације деривата шиконина

3. Испитати релативни однос про- и анти-апоптоских молекула, као и активацију каспазе 3 у леукемијским лимфоцитима
4. Испитати утицај биоактивних супстанци на ћелијски циклус и митотску активност ћелија BCL1 и JVM-13 ћелијске линије
5. Испитати утицај биоактивних супстанци на активност сигналног пута STAT3 у ћелијама BCL1 и JVM-13 ћелијске линије
6. Испитати утицај биоактивних супстанци на активност сигналног пута STAT3 у BCL1 и JVM-13 ћелијама третираних липополисахаридом (LPS, од енгл. *lypopolisacharide*), активатором STAT3 молекула
7. Испитати деловање испитиваних супстанци *in vivo* на анималном моделу CLL код BALB/c мишева мерењем релативне заступљености малигну лимфоцита у периферној крви и слезини.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Дуго се сматрало да је CLL резултат клонске акумулације малигну трансформираних зрелих В лимфоцита који су резистентни на апоптозу. Међутим, новије студије показују да постоји и значајна пролиферација ћелија CLL и то доминантно у лимфним чворовима. Пролиферација и резистенција CLL ћелија на апоптозу повезана је са активацијом више сигналних путева међу којима је и STAT3, па његова инхибиција представља једну од терапијских опција пацијената оболелих од CLL. Сигнални пут STAT3 регулише експресију бројних гена који контролишу пролиферацију, диференцијацију, смрт и матичност ћелија. Истраживања су показала да инхибиција STAT3 сигналног пута уводи туморске ћелије у апоптозу *in vitro* и то повећањем односа Bax/Bcl-2. Осим што регулише експресију антиапоптоског Bcl-2 молекула, активирани STAT3 повећава експресију антиапоптоског Mcl-1 молекула, а његова инхибиција уводи ћелије у апоптозу, смањујући ниво Mcl-1. Такође, STAT3 регулише ћелијску пролиферацију и инхибиција STAT3 зауставља ћелије у G1 фази ћелијског циклуса смањујући ниво циклина D1 и смањујући експресију гена за инхибиторе циклин зависних киназа, *Cdkn1a* и *Cdkn1b*. STAT3 учествује у онкогенези модулишући експресију тумор супресор гена *P53*. Фосфорилисани STAT3 инхибира експресију *P53*, чији продукт p53 протеин смањује транскрипцију гена одговорних за репликацију ДНК и пролиферацију ћелија са оштећеном ДНК. Гени које су *Nanog*, *Sox2* и *Oct4* су експримирани у туморским матичним ћелијама и играју улогу у пролиферацији и инхибирању диференцијације матичне ћелије. Показано је да активација STAT3 повећава експресију ових гена али и онкогена *c-Myc* који такође контролише транскрипцију гена експримираних у матичним ћелијама.

С обзиром да CLL ћелије развијају резистенцију на све до сада коришћене хемотерапеутике и да новији приступи лечења CLL подразумевају примену модулятора сигналних молекула, испитали бисмо потенцијално антитуморско дејство 2 деривата шиконина добијених из биљке *Onosma visianii* (*isobutyrylshikonin*, *α-methylbutyrylshikonin*) *in vitro* на BCL1 ћелијама мишије хроничне лимфоцитне леукемије и JVM-13 ћелијама хумане В-пролимфоцитне леукемије и антитуморски ефект *in vivo* у експерименталном

моделу CLL. Уколико би испитиване супстанце имале антитуморско дејство на леукемијске лимфоците преко претпостављеног механизма инхибиције STAT3 сигналног пута, те супстанце би могле бити потенцијална нова терапија CLL.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије:

Истраживање је осмишљено као експериментална студија на материјалу хуманог и анималног порекла *in vitro* и експериментална студија на животињама *in vivo*.

2.7.2. Ћелијске културе и експерименталне животиње:

У планираној студији користиће се ћелијске линије BCL1 и JVM-13 и експериментални мишеви соја BALB/c.

BCL1 ћелијска линија мишије леукемије/лимфома (ATCC® TIB-197™) и JVM-13 ћелијска линија хумане B-пролимфоцитне леукемије (ATCC® CRL-3003™) ће се узгајати у стандардним условима и то BCL1 ћелијска линија у RPMI1640 медијуму са 2mM L-глутамином, 0.05mM 2-меркаптоетанолом и 15% феталног говеђег серума а JVM-13 ћелијска линија у RPMI1640 медијуму са 10% феталног говеђег серума. За испитивање *in vitro* ефеката биоактивних супстанци на ћелијској линији BCL1 и JVM-13 користит ће се стандардно узгајене BCL1 и JVM-13 ћелије.

Као експерименталне животиње користимо мишеве соја BALB/c, оба пола, старости од 8 до 10 недеља узгајани у Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија Факулета медицинских наука у Крагујевцу. Животиње ће бити узгајане под стандардним условима у Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија уз слободан приступ храни и води. Сви експерименти ће бити спроведени у складу са одредбама Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

2.7.3. Узорковање

Животиње ће методом случајно избора бити распоређене у кавезе и тако ће се формирати следеће експерименталне и контроле групе:

1. Група мишева која ће након индукције CLL примати *isobutyrylshikonin*
2. Група мишева која ће након индукције CLL примати *methylbutyrylshikonin*
3. Контролна група мишева која ће након индукције CLL примати циклофосфамид
4. Контролна група мишева након индукције CLL неће примати ништа

2.7.4. Варијабле које се мере у студији:

Независне варијабле: примењене биоактивне супстанце (*isobutyrylshikonin*, *α-methylbutyrylshikonin*) добијене са Института за хемију, Природно математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу.

Зависне варијабле: вредности мерених параметара вијабилности, пролиферативне способности, апоптозе, нивоа протеина и експресије гена у ћелијама линије BCL1 и JVM-13 као и мерење релативне заступљености малигних лимфоцита у периферној крви и слезини BALB/c мишева.

MTT тест за испитивање цитотоксичног ефекта. BCL1 и JVM-13 ћелије (10^6 ћелија/ml) претходно излагане испитиваним супстанцама у различитим концентрацијама у периоду од 24 часа и 48 часова ће се излагати MTT супстанци 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолиум бромид у трајању од 4 сата у микротитар плочама са 96 отвора. Интензитет боје у ћелијама се одређује колориметријски и интензитет боје је пропорционалан броју живих ћелија.

Процена пролиферативне способности. Анализа проточном цитометријом ћелија претходно третираних 24 часа испитиваним супстанцама фиксираних 90% етанолом и обојених K167 mAb конјугованим FITC-ом.

Квантитативно испитивање апоптотске смрти. Анализа проточном цитометријом ћелија претходно третираних 24 часа и бојених *Annexin*-ом и пропиридијум јодидом.

Анализа ћелијског циклуса. За анализу процентуалне заступљености BCL1 и JVM-13 ћелија у одређеној фази ћелијског циклуса користиће се Vybrant® DyeCycle™ Ruby stain кит (Thermo Fisher Scientific, Inc. USA). Vybrant® DyeCycle™ Ruby stain се користи за анализу садржаја ДНК у живим ћелијама, јер лако прође кроз ћелијску мембрану и двоструко се веже за молекулу ДНК, па се на основу интензитета флуоресценције мерене проточном цитометријом може се одредити количина молекула ДНК у анализираним ћелијама које се налазе у одређеној фази ћелијског циклуса.

Анализа експресије протеина проточном цитометријом. Третиране ћелије BCL-1 и JVM-13 ћелијске линије ће се бојити антителима за интрацелуларне молекуле: Mcl-1, Noxa, pSTAT3(Tyr705), cyclin D1, CDKN1A (p21), CDKN1B (p27) и њихова експресија биће мерена проточним цитометром FACSCalibur (BD Biosciences) а анализа обављена коришћењем програма FlowJo (Tree Star).

Анализа експресије гена реакцијом ланчаног умножавања (PCR од енг. *Polymerase Chain Reaction*). Након двадесетчетворочасовног излагања BCL1 и JVM-13 ћелија испитиваним супстанцама, издвојиће се РНК из поменутих ћелија коришћењем тризола. Потом ће се из РНК методом реверзне транскрипције добити једноланчана комплементарна ДНК и анализирати експресија гена за Bcl-2, Вах, каспазу 3 и гена које контролише STAT3 (*Nanog*, *Sox2*, *Oct4*, *c-Myc*, *P53*, *Cdkn1a* и *Cdkn1b*) коришћењем прајмера за поменуте гене.

Експериментални модел CLL и примена испитиваних супстанци. Ћелије BCL1 ћелијске линије ће се апликовати интравенски у дози од 10^6 ћелија сингеним BALB/c мишевима, старости 8-10 недеља. Од 21. дана експеримената мишеви ће почети да примају испитиване супстанце три пута недељно током 2 узастопне недеље у дози која ће се одредити након *in vitro* експеримената. Испитиване супстанце ће се ординирати интраперитонеално растворене у маслиновом уљу. Прва група контролних мишева ће примати циклофосфамид једанпут недељно током 2 узастопне недеље у дози од 100mg/kg која претставља максималну толерабилну дозу за овај сој мишева. Друга група контролних мишева неће након апликације BCL1 ћелија примати ништа. Мишеви ће се жртвовати 2 дана након последње апликације испитиваних супстанци (или раније ако су присутни знаци патње, смањена покретљивост или измењено понашање).

Изолација мононуклеарних ћелија из слезине. Након жртвовања мишева екстирпираће се слезине, пропуштањем кроз ћелијско сито (cell strainer, BD Pharmingen, USA) и лизирањем еритроцита добиће се суспензија појединачних мононуклеарних ћелија.

Детекција леукемијских ћелија међу мононуклеарним ћелијама слезине и периферне крви. Ћелије ће бити регистроване помоћу моноклонских антитела (обележених флуоресцентним бојама) и то за: CD5, CD19, CD11b, pSTAT3. Обележене ћелије ће бити анализирани помоћу проточног цитометра FACSCalibur (BD Biosciences) а анализа обављена коришћењем програма FlowJo (Tree Star).

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Величина узорка је израчуната на основу података добијених у предекспериментима, о вредностима процента $\text{CD5}^+\text{CD19}^+$ ћелија у периферној крви мишева третираних шиконинима и контролних мишева који примили само туморске ћелије. Студијски узорак је израчунат узимајући алфа као 0.05 и снагу студије од 0.8 за *Student*-ов *t* тест (два независна узорка), упоређујући групе међу собом (у оба смера), према статистичком програму G*Power3. На основу претпоставке која захтева највећи узорак, односно очекиване најмање разлике у испитиваним параметрима између експерименталних и контролних група, утврђен је број експерименталних животиња према групама и он износи 48 за сваку од група. Овакав студијски узорак претпоставља утврђивање статистички значајне разлике (*Student's t* тестом за два независна узорка или *Mann-Whitney* тестом) између две групе животиња, са снагом студије $\geq 80\%$.

2.7.6. Статистичка обрада података

Добијени резултати ће бити представљени као средње вредности \pm стандардне грешке. Статистичка значајност ће се одређивати *Student*-овим *t* тестом, а по потреби и *Mann-Whitney*-евим тестом и ANOVA тестом. Статистичка значајност ће бити претпостављена за $p=0.05$. Све статистичке анализе биће обављене у употребом програма SPSS 20.0.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Најзначајнији одговор који се надамо да ћемо добити је да постоји антитуморско дејство *isobutyrylshikonin* и/или *α-methylbutyrylshikonin* на леукемијске лимфоците. Задовољавајући резултат би био проналажење биоактивне супстанце која би у одређеним концентрацијама и након адекватног временског интервала смањила вијабилност леукемијских лимфоцита модулацијом сигналних путева који учествују у патогенези CLL. С обзиром на доказану улогу STAT3 сигналног пута у патогенези CLL и претходна истраживања која су показала да шиконини инхибирају STAT3 сигналног пута, очекујемо да шиконински деривати инхибирају STAT3 и тако остварују своје антитуморско дејство. Како би открили тачан механизам којим STAT3 уводи леукемијске лимфоците у апоптозу, измерићемо експресију више гена који су под контролом овог сигналног пута. Очекује се да дође до промене експресије неких од ових гена у леукемијским лимфоцитим након третирања шиконинским дериватима.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Хронична лимфоцитна леукемија је болест са великом преваленцом међу старијом популацијом. С обзиром да не постоји лек који ефикасно лечи CLL а да измењени лимфоцити брзо развијају резистенцију на постојеће хемотерапеутике, проналажење нових лекова који модулирају сигналне путеве кључне у патогенези болести представљају будућност терапије. Антитуморско дејство деривата шиконина изолованих из биљке *Onosma visianii* показано је на више солидних тумора и леукемија, али није испитано њихово дејство на CLL.

Користећи ћелијске линије хумане пролимфоцитне леукемије (JVM-13) и линију мишије хроничне лимфоцитне леукемије (BCL1) испитаћемо да ли шиконински деривати који се иначе налазе биљкама коришћеним у традиционалној медицини, могу смањити виабилност леукемијских лимфоцита. Потом, испитаће се утицај тих супстанци на ћелијски циклус, пролиферацију и тип ћелијске смрти BCL1 и JVM-13, као и њихов утицај на сигнални пут STAT3 који је кључан у патогенези CLL. Након тога индуковаће се CLL код BALB/c мишева интравенском апликацијом BCL1 ћелија и мериће се утицај испитиваних супстанци на релативну заступљеност малигних лимфоцита у периферној крви и слезини *in vivo*.

Овим истраживањем би се евентуално указало на супстанце које би уз додатна претклиничка испитивања биле потенцијална терапија CLL.

3. Предлог ментора

За менторе ове докторске дисертације Комисија предлаже проф. др Предрага Ђурђевића, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина и проф. др Марију Миловановић,

ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија. Предложени наставници испуњавају услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1. Компетентност ментора

Проф. др Предраг Ђурђевић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом.

1. Vukovic NL, Obradovic AD, Vukic MD, Jovanovic D, **Djurdjevic PM**. Cytotoxic, proapoptotic and antioxidative potential of flavonoids isolated from propolis against colon (HCT-116) and breast (MDA-MB-231) cancer cell lines. *Food Res Int.* 2018;106:71-80.
2. Vukic MD, Vukovic NL, Obradovic AD, Popovic SL, Zaric MM, **Djurdjevic PM**, Markovic SD, Baskic DD. Naphthoquinone rich *Onosma visianii* Clem (Boraginaceae) root extracts induce apoptosis and cell cycle arrest in HCT-116 and MDA-MB-231 cancer cell lines. *Nat Prod Res.* 2017; doi: 10.1080/14786419.2017.1374271.
3. Deljanin M, Nikolic M, Baskic D, Todorovic D, **Djurdjevic P**, Zaric M, Stankovic M, Todorovic M, Avramovic D, Popovic S. Chelidonium majus crude extract inhibits migration and induces cell cycle arrest and apoptosis in tumor cell lines. *J Ethnopharmacol.* 2016;190:362-71.
4. Antic D, Milic N, Nikolovski S, Todorovic M, Bila J, **Djurdjevic P**, Andjelic B, Djurasinovic V, Sretenovic A, Vukovic V, Jelacic J, Hayman S, Mihaljevic B. Development and validation of multivariable predictive model for thromboembolic events in lymphoma patients. *Am J Hematol.* 2016 Oct;91(10):1014-9.
5. Baskic D, Popovic S, Bankovic D, Arsovic A, Vukovic V, Zelen I, **Djurdjevic P**. Evaluation of inflammatory biomarkers as helping diagnostic tool in patients with breast cancer. *Cancer Biomark.* 2014;14(6):401-8.

Учешће на пројектима које финансира Министарство просвете науке и технолошког развоја Р Србије (ОН175069 и ОН175103)

Проф. др Марија Миловановић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом.

1. Milovanovic J, Popovic B, **Milovanovic M**, Kvestak D, Arsenijevic A, Stojanovic B, Tanaskovic I, Krmpotic A, Arsenijevic N, Jonjic S, Lukic ML. Murine Cytomegalovirus Infection Induces Susceptibility to EAE in Resistant BALB/c Mice. *Front Immunol.* 2017;8:192.
2. Arsenijevic M, **Milovanovic M**, Jovanovic S, Arsenijevic N, Markovic BS, Gazdic M, Volarevic V. In vitro and in vivo anti-tumor effects of selected platinum(IV) and dinuclear platinum(II) complexes against lung cancer cells. *J Biol Inorg Chem.* 2017; 22(6):807-817.
3. Arsenijevic A, **Milovanovic M**, Milovanovic J, Stojanovic B, Zdravkovic N, Leung PS, Liu FT, Gershwin ME, Lukic ML. Deletion of Galectin-3 Enhances Xenobiotic Induced Murine Primary Biliary Cholangitis by Facilitating Apoptosis of BECs and Release of Autoantigens. *Sci Rep.* 2016;6:23348.

4. Volarevic V, **Milovanovic M**, Djekovic A, Petrovic B, Arsenijevic N, Bugarcic Z.D. The cytotoxic effects of some selected gold(III) complexes on 4T1 cells and their role in the prevention of breast tumor growth in BALB/c mice. J BUON 2010; 15:768-73.
5. Vujić JM, Cvijović M, Kaluderović GN, **Milovanović M**, Zmejkovski BB, Volarević V, Arsenijević N, Sabo TJ, Trifunović SR. Palladium(II) complexes with R(2)edda derived ligands. Part IV. O,O'-dialkyl esters of (S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-(4-methyl)-pentanoic acid dihydrochloride and their palladium(II) complexes: synthesis, characterization and in vitro antitumoral activity against chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells. Eur J Med Chem. 2010 Sep;45(9):3601-6.

Учешће на пројектима које финансира Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (ЈП02/15 и ЈП06/12)

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: клиничка и екпериментална интерна медицина.

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Гордана Радосављевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник
2. **Доц. др Ненад Вуковић**, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан
3. **Доц. др Оливера Тарабар**, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан

ЗАКЉУЧАК И ОДЛУКА КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег успеха на докторским студијама и публикованих радова, др Жељко Тодоровић испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.

Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је прецизна и јасна.

Комисија сматра да ће предложена докторска дисертација кандидата др Жељка Тодоровића бити од великог научног и практичног значаја, јер ће добијеним резултатима дати значајан допринос лечењу и бољем разумевању патогенезе хроничне лимфоцитне леукемије.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др Жељка Тодоровића под називом „Антитуморски ефекти активних принципа изолованих из *Onosma visianii* на леукемијским лимфоцитима“.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Гордана Радосављевић, ванредни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија,
председник

Доц. др Ненад Вуковић, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у
Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан

Доц. др Оливера Тарабар, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије
Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан

У Крагујевцу, 23.10.2018. године