



1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-14/22 од 19.01.2023. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др Анђеле Петровић под називом:

„Утицај метформина на туморицидни потенцијал НК и НКТ ћелија у мишјем моделу карцинома дојке”

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. **проф. др Слађана Павловић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник
2. **доц. др Марина Јовановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, члан
3. **доц. др Милан Јовановић**, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Хирургија, члан

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

2. Извештај комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Кандидат др Анђела Петровић испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Научни приступ проблему предложеног нацрта докторске дисертације

Тумор дојке је један од најчешћих примарних тумора данашњице. Иако стопе преживљавања расту последњих деценија, тумор дојке и даље је један од водећих узорка смрти широм света. Главни разлог овако велике смртности је изузетна способност тумора дојке да развија удаљене метастазе, најчешће у плућа, кости, мозак, јетру и лимфне чворове.

Мноштво студија показало је да ћелије тумора дојке, као слабо имуногеног тумора, имају више различитих механизма којима избегавају механизме како стечене, тако и урођене имуности. Једна од незаменљивих компоненти урођене имуности су урођеноубилачке ћелије (енгл. *Natural Killer cells*, NK), док су Т лимфоцити природне убице (енгл. *Natural Killer T cells*, NKT) ћелије, истовремено део и урођене и стечене имуности. Истраживања су показала да је ова врста ћелија значајна и за надзор над настанком и за елиминацију ћелија тумора, нарочито када се нађу у средини у којој преовладавају цитокини који стимулишу њихову цитотоксичку активност. Зато је јасно да супресија и исцрпљеност ових ћелија указује на лошу прогнозу болести.

Метформин је орални антидијабетски лек који је у широј употреби деценијама. Истраживања дејстава које метформин има на људски организам одавно су показала да метформин инхибира настанак тумора, као и да смањује пролиферацију и прогресију појединих врста тумора. Поред директног ефекта метформина на туморске ћелије значајно је напоменути да је испитивана и улога овог лека у модулацији антитуморског имуноског одговора, како стеченог, тако и урођеног. Утицај метформина на компоненте урођене имуности потврдило је скорије истраживање на NK ћелијама, где је показано да метформин појачава цитотоксичку активност NK ћелија, и то путем сигналног пута p38.

Истраживањима међутим до сада није обухваћен утицај метформина на функционални фенотип NKT ћелија у моделима тумора. Предложено истраживање могло би да осветли нове механизме ефеката метформина на прогресију тумора дојке и да укаже на евентуалну улогу NKT ћелија у развоју ових механизма. Досадашњим студијама такође нису потпуно растветљени механизми којима метформин утиче на функционални фенотип NK ћелија.

2.2. Процена научног доприноса и крајњег исхода

Антитуморски потенцијал метформина показан је у бројним истраживањима. Досадашње студије су углавном испитивале утицај метформина на пролиферацију, диференцијацију и функционални фенотип ћелија стечене имуности. На основу досадашњих сазнања из литературе, очекује се да ће метформин изменити функционални фенотип и појачати антитуморску цитотоксичност тумор-инфилтришућих NKT ћелија. Такође, очекује се да ће ово истраживање пружити нова сазнања о механизмима којима метформин потенцира туморицидни фенотип NK ћелија. Сходно томе, очекивано је да резултати ове студије покажу како метформин утиче на раст и метастазирање тумора дојке и да ли и како метформин мења састав ћелијског инфилтрата у примарном тумору и метастазама у плућима и јетри. Очекивано

је да раст и метастазирање тумора дојке буду успорени услед измењеног антитуморског имунског одговора под дејством метформина.

Такође се очекује и да добијени резултати потврде да терапија метформином доприноси антитуморском имунском одговору и то путем утицаја на компоненте урођене имуности.

2.3. Наслов, циљ(еви) и хипотеза(е) докторске дисертације

Наслов: „Утицај метформина на туморицидни потенцијал НК и НКТ ћелија у мишјем моделу карцинома дојке”

Циљеви: Основни циљ овог истраживања, које ће се спровести у експерименталном мишјем моделу карцинома дојке, је испитивање утицаја метформина на раст и развој карцинома дојке као и модулација антитуморског имунског одговора под дејством овог антидијабетика.

У складу са главним циљем, постављени су следећи експериментални задаци:

Испитати учинак примене метформина на:

1. раст примарног карцинома дојке и инциденцу метастаза;
2. системске вредности про- и анти- инфламацијских цитокина;
3. ћелијски састав слезине пре и после индукције тумора и субпопулације тумор-инфилтришућих леукоцита код оболелих мишева;
4. фенотипске и функционалне карактеристике НК и НКТ као и цитотоксички капацитет НК и НКТ ћелија слезине, пре и после индукције тумора;
5. фенотипске и функционалне карактеристике регулаторних Т лимфоцита (енгл. *Regulatory T cells*, Tregs), супресорских ћелија мијелоидног порекла (енгл. *Myleoid-Derived Suppressor Cells*, MDSC) и дендритских ћелија, пре и после индукције тумора;
6. експресију молекула значајних у активацији сигналних путева у НК и НКТ ћелијама

Хипотезе:

1. Апликација метформина успорава раст и метастазирање тумора дојке;
2. Апликација метформина повећава системске вредности цитокина који појачавају антитуморски имунски одговор TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-12, а смањује серумску концентрацију цитокина који супримирају антитуморски имунски одговор IL-4, IL-10, IL-13 и IL-17 код мишева са тумором;
3. Апликација метформина повећава инфилтрацију слезине леукоцитима;
4. Апликација метформина повећава инфлукс НК, НКТ и CD8⁺ Т лимфоцита у примарни тумор, истовремено смањујући заступљеност Tregs и MDSC;
5. Апликација метформина повећава цитотоксички капацитет НК и НКТ ћелија и повећава сазревање и активацију дендритских ћелија;

6. Апликација метформина појачава експресију молекула значајних у активацији сигналних путева у NKT ћелијама.

2.4. Методе истраживања

2.4.1. Врста студије

Истраживање ће бити реализовано као експериментална *in vivo* студија на животињама.

2.4.2. Популација која се истражује

ЕКСПЕРИМЕНТАЛНЕ ЖИВОТИЊЕ

Као експерименталне животиње користиће се мишеви соја BALB/C, женског пола, старости од 6 до 8 недеља узгајаним у виваријуму Центра за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Експерименти ће се извести у Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија. Животиње ће бити третиране сагласно прописаним узгојним условима све до завршетка експеримента. Целокупан рад са животињама у овој студији ће се обављати уз одобрење Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (Етичко одобрење број 01-8354 од 09.07. 2019. године).

2.4.3. Узорковање

За потребе истраживања јединке ће се методом случајног узорка одвајати у кавезе по групама, тако да ће бити формиране четири експерименталне групе:

1. првој групи индуковаће се тумор дојке и добијаће 200mg/kg метформина раствореног у 100µl дестиловане воде сваког дана
2. другој групи индуковаће се само тумор дојке
3. трећа група је контролна са здравим мишевима који ће добијати 200mg/kg метформина раствореног у 100µl дестиловане воде сваког дана
4. четврта група је контролна са здравим мишевима који ће добијати 100µl дестиловане воде сваког дана

Индуковање тумора: Тумор ће се индуковати апликацијом слабо имуногене ћелијске линије малигног тумора дојке 4T1, сингене са BALB/C мишевима. Туморске ћелије 4T1 ће се узгајати у Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) у који је додат Fetal Bovine Serum, L-glutamine, penicillin/streptomycin и несенцијалне аминокиселине. Узгајаће се у инкубатору на 37°C са 5% CO₂. Туморске ћелије 4T1 ће се убризгавати субкутано, директно у млечну жлезду број 4 у дози од 5x10⁴ /50µl медијума.

Апликација метформина: Метформин ће се апликовати у дози од 200mg/kg по мишу свакодневно почев од нултог дана експеримента интрапериотонеално.

2.4.4. Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле: доза метформина, доза туморских ћелија, мишеви соја BALB/C

Зависне варијабле: величина примарног тумора, маса примарног тумора, број и величина метастатских колонија, ћелијски састав слезине и субпопулације тумор-инфилтришућих леукоцита, фенотипске и функционалне карактеристике и цитотоксички капацитет NK и NKT ћелија, Tregs, MDSC и дендритских ћелија

Збуњујуће варијабле: не постоје

Дан појаве палпабилног тумора. Свакодневном палпацијом ће се проверавати појава палпабилног тумора. Мерење величине примарног тумора. Од дана појаве палпабилног тумора, на свака два дана ће се нонијусом мерити пречник тумора. Запремина тумора ће се израчунавати по формули:

$$V(\text{mm}^3) = \frac{L (\text{највећи пречник}) \times W^2 (\text{најмањи пречник})}{2}$$

Након израчунавања запремине, мерењем примарног тумора на аналитичкој ваги ће се мерити и маса тумора.

Верификација броја и величине метастаских колонија. Мишеви ће се жртвовати 35-ог дана експеримента цервикалном дислокацијом. За хистопатолошку анализу користиће се препарати плућа и јетре. Од ткива плућа и јетре направиће се парафински исечци и обојити еозин-хематоксилинским бојењем. Тридесет петог дана после убризгавања туморских ћелија метастазе у плућима и јетри биће верификоване микроскопски. У овој студији одређиваће се инциденца метастаза, односно број мишева који има детектабилне метастазе у плућима и јетри, као и број детектабилних метастаза по органу. Добијени резултати ће се приказивати као средња вредност \pm стандардна грешка.

Одређивање концентрације цитокина у серуму. Вредности цитокина (TNF α , IFN γ , TGF β , IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17) ће мерити стандардном ELISA техником, коришћењем ELISA сетова специфичних за мишје цитокине (R&D Systems Minneapolis, MN), према упутствима произвођача.

Изолација ћелија из слезине. Након жртвовања свим мишевима ће се екстирпирати слезина, а затим ће се извести читав поступак изолације спленоцита на

+4°C. Најпре ће се слезина клипом шприца протиснути кроз ћелијско сито (cell strainer, BD Pharmingen, USA) у епрувету од 50ml уз додавање 5ml медијума (RPMI-1640; PAA Laboratories GmbH са додатком 10% FBS-а). Овако раздвојене појединачне ћелије ће се центрифугирати 5 минута на 350G. Након одливања супернатанта, на ћелијски талог се додаје 5ml раствора за лизирање (4mg EDTA, 100mg NaHCO₃, 826mg NH₄Cl, растворено у 100ml ddH₂O), и инкубира се 5 минута на леду. Даље лизирање се зауставља додавањем 5ml RPMI-1640 (10% FBS). Затим се ћелије центрифугирају, одлива се супернатант, а талог се ресуспендује у 8ml RPMI-1640 (10% FBS). Да би се избегла контаминација спленоцита хистиоцитима слезине, ћелије се још једном пропуштају кроз ћелијско сито. Овако добијена суспензија појединачних спленоцита ће се користити у даљим испитивањима (за проточну цитометрију и тест цитотоксичности). Након изолације, приликом бројања ћелија одређиваће се и њихова вијабилност помоћу trypan-blue-а под светлосним микроскопом и у експерименталном раду биће коришћене само суспензије ћелија са вијабилношћу већом од 90%.

Изолација NK ћелија. Коришћењем анти-CD49b (позитивна селекција NK ћелија) магнетима конјугованих антитела и пропуштањем претходно изолованих спленоцита кроз LS колоне магнетног MACS сепаратора изоловаће се NK ћелије.

Изолација ћелија из примарног тумора. Након жртвовања, свим мишевима биће изоловани примарни тумори и измериће се њихова маса. Тумори ће бити уситњени макамама, а затим опрани коришћењем PBS-а. Уситњене туморе ћемо ресуспендовати у 5 ml медијума за дигестију (1mg/ml колагеназа тип I, 1mM EDTA у 10 ml у који је додато 2% FBS). Након два сата на 37°C уз мешање на шејкеру, ћелије ће бити центрифугиране 5 минута на 300G, а супернатант ће бити одливен пипетом. На талог ће затим бити додато 10ml трипсина и ћелије ће бити инкубирани на 37°C у трајању од 3 минута. Затим ће садржај у епруветама бити центрифугиран 10 минута на 300G након чега ће супернатант бити одливен пипетом. На талог ћемо додати 2.5 ml DNA-зе (10µg/ml) и инкубирати ћелије на 37°C у трајању од 1 минута. Након инкубације, у епрувете ћемо додати 7ml DMEM и још једном центрифугирати садржај 10 минута на 300G. Након центрифугирања, одлићемо супернатант пипетом и додати 5 ml комплетног медијума. Садржај ћемо пропустити кроз ћелијско сито, а потом центрифугирати 10 минута на 300 G. Ћелије ћемо ресуспендовати у 0,5ml DMEM. Након изолације, приликом бројања ћелија одређиваће се и њихова вијабилност помоћу trypan-blue-а под светлосним микроскопом и у експерименталном раду биће коришћене само суспензије ћелија са вијабилношћу већом од 90%. Овако добијена суспензија појединачних ћелија ће се користити у даљим испитивањима (за проточну цитометрију).

Цитотоксичност ћелија. Цитотоксичност NK ћелија мериће се на Roche Xcelligence апарату. Првог дана ће се поставити ћелије 4T1 туморске линије (10⁴ ћелија по бунару) у плочу са златним нитима. Након 24 часа ће се додати ефекторске ћелије тако да однос циљане ћелије:ефекторске ћелије буде 1:10 и пратиће се ћелијски индекс наредних 48-72 часа.

Ћелијски састав слезине и мононуклеарног инфилтрата примарног тумора. Проточном цитометријом, коришћењем моноклонских антимишјих антитела (CD45, CD3, CD4, CD8, CD11b, CD11c, CD19, CD25, F4/80, Foxp3, Ly6G, Ly6C, Lin coct, Sca-1, МНС II, CD86, Gr1) одређиваће се процентуални удео и укупан број различитих популација леукоцита у слезини и примарном тумору.

Квантификација и фенотипизација НК и NKT ћелија. Проточном цитометријом, коришћењем моноклонских антимишјих антитела (CD3, CD4 и CD49b) одређиваће се процентуални удео и укупан број НК и NKT ћелија у слезини и примарном тумору. Комбинацијом поменутих антитела са анти: KLRG, CD69, NKG2D, CD69, PD-1, Fas-L, CD107, IFN- γ , IL-10, IL12R, као и антитела специфичних за перфорин и гранзим, одредиће се фенотипске и функционалне карактеристике НК и NKT ћелија након апликације тумора.

Квантификација и фенотипизација Tregs лимфоцита. Проточном цитометријом, коришћењем моноклонских антимишјих антитела (CD4 и FoxP3) одређиваће се процентуални удео и укупан број Tregs лимфоцита у слезини и примарном тумору. Комбинацијом поменутих антитела са анти: IL-10, TGF β , IDO, iNOS одредиће се фенотипске и функционалне карактеристике Tregs лимфоцита након апликације тумора.

Квантификација и фенотипизација MDSC ћелија. Проточном цитометријом, коришћењем моноклонских антимишјих антитела (CD11b/c и GR1) одређиваће се процентуални удео и укупан број MDSC ћелија у слезини и примарном тумору. Комбинацијом поменутих антитела са анти: TGF β , IDO, iNOS одредиће се фенотипске и функционалне карактеристике MDSC ћелија након апликације тумора.

Квантификација и фенотипизација макрофага. Проточном цитометријом, коришћењем моноклонских антимишјих антитела (CD11b/c и GR1) одређиваће се процентуални удео и укупан број макрофага у слезини и примарном тумору. Комбинацијом поменутих антитела са анти: IL-4, IL-13, IFN- γ , TGF β , IDO, iNOS, МНС II одредиће се фенотипске и функционалне карактеристике макрофага након апликације тумора

Квантификација и фенотипизација дендритских ћелија. Проточном цитометријом, коришћењем моноклонских антимишјих антитела (CD11b/c и GR1) одређиваће се процентуални удео и укупан број дендритских ћелија у слезини и примарном тумору. Комбинацијом поменутих антитела са анти: IL-10, IL-12, TGF β , IDO, iNOS, МНС II одредиће се фенотипске и функционалне карактеристике дендритских ћелија након апликације тумора.

***In vitro* инхибиција индоламин-2, 3 диоксигеназе.** У сваки од 24 бунара микротитар плоче ставиће се по 2 милиона спленоцита изолованих из здравог миша, а

затим ће се у бунаре додати медијум RPMI 1640. Након тога ће се једној групи додати 10mmol/l метформина и 1 mM фармаколошког инхибитора IDO-а, 1-метил DL триптофана, другој групи ће се додати само метформин, а трећој групи само фармаколошки инхибитор. Након инкубације ћелије ће бити центрифугиране, затим “обојене“ примарно конјугованим моноклонским антителима и анализирани проточном цитометријом.

***In vitro* инхибиција индуцибилне азот монооксид синтазе.** У сваки од 24 бунара микротитар плоче са 24 бунара плоче ставиће се по 2 милиона спленочита изолованих из здравог миша, а затим ће се у бунаре додати медијум RPMI 1640 медијум. Након тога ће се једној групи додати 10mmol/l метформина и 1 mM фармаколошког инхибитора ензима iNOS, L-N G -монометил аргинин цитрата, другој групи ће се додати само метформин, а трећој групи само фармаколошки инхибитор. Након инкубације, ћелије ће бити центрифугиране, затим “обојене“ примарно конјугованим моноклонским антителима и анализирани проточном цитометријом.

Real-time PCR. Методом ланчане реакције полимеризације у реалном времену (енгл. Real-time quantitative reverse transcription–polymerase chain reaction, RT-PCR) измерићемо експресију mRNA молекула STAT4, STAT6, EGR1, EGR2, RIPK3, NFAT, MIP-1a, MIP-1b, NKG2D, CXCR4, DNAM-1 у претходно изолованим NKT ћелијама. RNA се изолује и третира DNа-зом према упутству. Укупан RNA узорак се реверзно преписује, а потом амплификује коришћењем sense и antisense прајмера.

Анализа експресије miRNA. За анализу експресије miRNA неопходно је изоловати NK и NKT ћелије из мишева којима је индукован тумор дојке и који су добијали терапију метформином и из мишева којима је индукован тумор дојке. Узорак ће се састојати од око 100 ћелија. Комплетна количина RNA, укључујући мале RNAs, ће бити изоловане из NK и NKT ћелија помоћу Mirvana miRNA Isolation Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), пратећи протокол произвођача. Релативна експресија miRNA биће измерена помоћу TaqMan MicroRNA Assays који је заснован на RT-PCR методи детекције. Експресија miRNA-146a, miRNA-150 и miRNA-155 квантификоваће се помоћу комерцијално доступног TaqMan microRNA Assay Kits и TaqMan Universal Master Mix No AmpUNG у систему 7500 Real-Time PCR (Applied Biosystems). Све реакције радиће се у трипликату за сваки узорак, у два независна експеримента.

2.4.5. Снага студије и величина уорка

Величина уорка израчуната је на основу података о вредностима запремине примарног тумора у студијама сличног дизајна. Студијски узорак је израчунат узимајући алфа као 0.05 и снагу студије од 0.8 за Student's t тест (два независна уорка), поредећи 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 20 за сваку од група. Овакав студијски узорак претпоставља утврђивање статистички значајне разлике (Student's t тест) за два независна узорка или Mann-Whitney тестом) између две групе животиња, са снагом студије $\geq 80\%$.

2.4.6. Статистичка анализа

Подаци ће се анализирати коришћењем статистичког програма SPSS верзија 20. Пре статистичке обраде података, прво ће се испитати правилност расподеле добијених вредности. Уколико вредности буду имале правилну расподелу користићемо параметарски Student-ов t тест, док ће се неправилна расподела поредити коришћењем непараметарског Mann-Whitney теста. Резултати експеримента ће се изражавати као вредност \pm стандардна грешка (SE). Статистички значајна разлика у добијеним вредностима између група износи $p < 0,05$, док је статистички веома значајна разлика када је $p < 0,01$.

2.5. Значај истраживања за развој науке

На основу доступне литературе може се закључити да активација NK и NKT ћелија и подстицање њиховог туморицидног фенотипа имају значајан утицај на раст и прогресију тумора дојке. Утврђивање да метформин, антидијабетски лек са потврђеним имуностимулационим дејством, појачава туморицидни потенцијал NK и NKT ћелија би додатно расветлило механизме којима овај лек утиче на раст и метастазирање тумора дојке и да ли и како мења састав ћелијског инфилтрату у примарном тумору и метастазама у плућима. Такође, очекивани резултат да метформин смањује раст и метастазирање тумора дојке услед измењеног антитуморског имунског одговора би могао допринети развоју ефикаснијих терапијских стратегија.

Осим тога, ово истраживање би требало да по први пут покаже да ли и на који начин метформин утиче на функционални фенотип и антитуморску цитотоксичност тумор-инфилтришућих NKT ћелија. Очекује се да добијени резултати потврде да терапија метформином утиче на компоненте урођене имуности, конкретно на NK и NKT ћелије и на тај начин доприноси антитуморском имунском одговору.

Резултати овог истраживања имају велики потенцијал за публикување у престижним научним часописима из области транслационе медицине, имунологије и онкологије и могу бити основа за будућа истраживања сличног циља и дизајна.

2.6. Образложење теме докторске дисертације и оригиналност идеје

Досадашње студије су показале да ћелије тумора дојке имају више различитих механизма којима избегавају механизме стеченог антитуморског имунског одговора. Осим инхибиције стечене имуности, студије су показале да ћелије тумора дојке супримирају и неке компоненте урођене имуности као што су NK ћелије. Метформин је орални антидијабетски лек који је у широј употреби већ више од 60 година.

Истраживања дејстава које метформин има на људски организам одавно су показала да метформин инхибира настанак тумора, као и да смањује пролиферацију и прогресију појединих врста тумора. Утицај метформина на компоненте урођене имуности потврдило је скорије истраживање на НК ћелијама, где је показано да метформин појачава цитотоксичку активност НК ћелија. Т лимфоцити природне убице (енгл. *Natural Killer T cells*, NKT) су ћелије које имају карактеристике и НК ћелија и Т лимфоцита због чега су истовремено део и урођене и стечене имуности. Истраживања су показала је да је ова врста ћелија значајна и за надзор над настанком и за елиминацију ћелија тумора. Промене у броју и функционалном фенотипу NKT ћелија особа које имају тумор виде се како у самом тумору, тако и у циркулацији. Мали број циркулишућих NKT ћелија и присуство NKT ћелија смањене цитотоксичности указују на лошу прогнозу болести. У литератури нема података да ли терапија метформином може активирати или спречити настанак исцрпљености NKT ћелија.

Истраживања до сада нису испитивала утицај метформина на функционални фенотип NKT ћелија у моделима тумора. Предложено истраживање могло би да осветли нове механизме ефеката метформина на прогресију тумора дојке и да укаже на евентуалну улогу NKT ћелија у развоју ових механизма.

Тема дисертације и планирано истраживање су оригинални јер досадашња истраживања нису била дизајнирана у смислу испитивања утицаја метформина на функционални фенотип тумор-инфилтришућих NKT ћелија.

2.7. Кратка биографија и научно истраживачки рад кандидата

Анђела Петровић је школске 2013/2014. уписала Факултет медицинских наука у Крагујевцу, а дана 28.02.2020. године је завршила интегрисане академске студије другог степена на студијском програму ИНТЕГРИСАНЕ АКАДЕМСКЕ СТУДИЈЕ МЕДИЦИНЕ са просечном оценом 9,22 након чега јој је додељена диплома о стеченом високом образовању и стручном називу ДОКТОР МЕДИЦИНЕ. Докторске академске студије је уписала на Факултету медицинских наука у Крагујевцу у септембру школске 2020/2021, године, изборно подручје Имунологија, инфекција и инфламација. Од октобра 2020. године је ангажована као фацитатор за обављање послова у оквиру практичне наставе за ужу научну област Микробиологија и имунологија. У септембру 2022. године је засновала радни однос на Факултету медицинских наука за обављање послова сарадника у настави за ужу научну област Микробиологија и имунологија. Стручни испит положила је 20.12. 2021. Школске 2022/2023. је уписала специјалистичке студије из гране медицине, Медицинска микробиологија. Школске 2022/2023. је уписала трећу годину докторских академских студија. У новембру 2022. године је положила усмени докторски испит са оценом 10. Познаје рад на рачунарима (Word, Excel, PowerPoint, SPSS). Анђела Петровић је као први аутор објавила један рад категорије M51, и то:

1. **Petrovic A, Markovic V, Maric V, Gajovic N. Metformin as a potential antitumor agent. Ser J Exp Clin Res. 2022. doi: 10.2478/sjecr-2022-0023 M51**

3. Предлог ментора/коментора

За ментора ове докторске дисертације се предлаже доц. др Невена Гајовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија. Наведени ментор поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњава услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

Компетентност ментора

Радови у вези са темом докторске дисертације:

1. **Gajovic N**, Jurisevic M, Pantic J, Radosavljevic G, Arsenijevic N, Lukic ML and Jovanovic I. Attenuation of NK cells facilitates mammary tumor growth in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Endocrine-related cancer* 2018; 25: 493-507..
2. Jovanovic M, Geller D, **Gajovic N**, Jurisevic M, Arsenijevic N, Jovanovic M, Supic G, Vojvodic D, Jovanovic I. Dual blockage of PD-L/PD-1 and IL33/ST2 axes slows tumor growth and improves antitumor immunity by boosting NK cells. *Life Sci.* 2022;289:120214.
3. Dimitrijevic Stojanovic M, Franich A, Jurisevic M, **Gajovic N**, Arsenijevic N, Jovanovic I, Stojanovic B, Mitrovic S, Kljun J, Rajkovic S, Zivkovic M. Platinum (II) complexes with malonic acids: Synthesis, characterization, in vitro and in vivo antitumor activity and interactions with biomolecules. *Journal of Inorganic Biochemistry* 2022; 231: 111773 DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2022.111773
4. Bošković M, Franich A, Rajković S, Jovanović M, Jurisević M, **Gajović N**, Jovanović M, Arsenijević N, Jovanović I and Živković M. Potential antitumor effect of newly synthesized dinuclear 1,5-naphthyridine-bridging palladium (II) complexes. *ChemistrySelect* 2020, 5: 10549-10555.
5. Jovicic-Milic S, Jevtic V, Radisavljevic S, Petrovic B, Radojevic I, Rakovic I, Petrovic Dj, Stojkovic D, Jurisevic M, **Gajovic N**, Petrovic Andjela, Arsenijevic N, Jovanovic I, Klisuric O, Vukovic N, Kacaniova M. Synthesis, characterization, DNA interactions and biological activity of new palladium (II) complexes with some derivatives of 2-aminothiazoles. *Journal of inorganic biochemistry* 2022;233.

4. Научна област дисертације

Медицина.

Предмет истраживања се односи на испитивање утицаја метформина на туморицидни потенцијал НК и НКТ ћелија. Предмет истраживања, циљ и постављене хипотезе и методолошки приступ истраживању су међусобно усклађени, а предложени ментор има научне компетенције које су подударне са предметом истраживања.

5. Научна област чланова комисије

- 1. проф. др Слађана Павловић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник
- 2. доц. др Марина Јовановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, члан
- 3. доц. др Милан Јовановић**, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Хирургија, члан

Сви предложени чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др Анђеле Петровић имају стручне и научне компетенције подударне са предметом истраживања.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Анђела Петровић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Анђеле Петровић под називом „Утицај метформина на туморицидни потенцијал НК и НКТ ћелија у мишћем моделу карцинома дојке“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. **проф. др Слађана Павловић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник

Слађана Павловић

2. **доц. др Марина Јовановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, члан

Марина Јовановић

3. **доц. др Милаш Јовановић**, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Хирургија, члан

Јовановић

У Крагујевцу, 23.01.2022. године