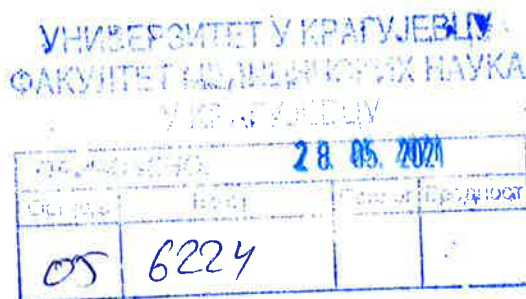


УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО- НАУЧНОМ ВЕЋУ



1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, IV-03-279/35 од 14.04.2021. године именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидаткиње др Драгане Милорадовић под називом:

„Зависност модулације антитуморског имунског одговора од времена примене мезенхимских матичних ћелија“

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Миодраг Стојковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика, председник комисије;
2. **Проф. др Биљана Љујић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика, члан;
3. **Проф. др Ивана Новаковић**, редовни професор Медицинског Факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Генетика, члан;

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

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

2.1. Кратка биографија кандидата

Драгана Милорадовић је рођена у Крагујевцу, 31.01.1991. године. Другу Крагујевачку гимназију завршила 2010. године и исте године уписала интегрисане академске студије медицине на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Дипломирала је 2016. године са просечном оценом 9,39. Докторске студије уписала у септембру 2016. године, на смеру Матичне ћелије у биомедицинским наукама. Од децембра 2018.

године запослена је на пројектима Министарства просвете, науке и технолошког развоја, као истраживач-приправник.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: Зависност модулације антитуморског имунског одговора од времена примене мезенхимских матичних ћелија

Предмет: Испитати да ли је време примене MSCs од пресудне важности за модулацију антитуморског имунског одговора и прогресију тумора.

Хипотезе:

1. H₀ хипотеза: Нема разлике у величини тумора у групи мишева којима су MSCs апликоване 24 сата након имплантације тумора у поређењу са величином тумора код животиња којима MSCs нису апликоване.
H₁ хипотеза: У групи мишева којима су MSCs апликоване 24 сата након имплантације тумора величина тумора је значајно мања у поређењу са величином тумора код животиња којима MSCs нису апликоване.
2. H₀ хипотеза: Нема разлике у величини тумора између мишева којима су MSCs апликоване 24 сата након имплантације тумора у поређењу са мишевима који су 14 дана од имплантације тумора примили MSCs.
H₁ хипотеза: У групи мишева којима су MSCs апликоване 24 сата након имплантације тумора величина тумора је значајно мања у поређењу са величином тумора мишева који су након 14 дана од имплантације тумора примили MSCs.
3. H₀ хипотеза: Нема разлике у преживљавању мишева који су примили MSCs након 24h од имплантације тумора у поређењу са мишевима којима MSCs нису апликоване након имплантације тумора;
H₁ хипотеза: Преживљавање мишева је веће у групи мишева који су примили MSCs након 24h од имплантације тумора у поређењу са мишевима којима MSCs нису апликоване након имплантације тумора;
4. H₀ хипотеза: Нема разлике у преживљавању мишева који су примили MSCs након 24h од имплантације тумора у поређењу са мишевима којима су MSCs апликоване 14 дана након имплантације тумора;
H₁ хипотеза: Преживљавање мишева је веће у групи мишева који су примили MSCs након 24h од имплантације тумора у поређењу са мишевима којима су MSCs апликоване 14 дана након имплантације тумора;

5. H₀ хипотеза: Нема разлике у броју тумор-инфилтришућих имунских ћелија у туморима мишева којима су MSCs апликоване 24 сата након имплантације тумора у поређењу са мишевима којима MSCs нису апликоване након имплантације тумора.
- H₁ хипотеза: Постоји значајна разлика у броју тумор-инфилтришућих имунских ћелија у туморима мишева којима су MSCs апликоване 24 сата након имплантације тумора у поређењу са мишевима којима MSCs нису апликоване након имплантације тумора.
6. H₀ хипотеза: Нема разлике у броју тумор-инфилтришућих имунских ћелија у туморима мишева којима су MSCs апликоване 24 сата након имплантације тумора у поређењу са мишевима којима су MSCs апликоване 14 дана након имплантације тумора.
- H₁ хипотеза: Постоји значајна разлика у броју тумор-инфилтришућих имунских ћелија у туморима мишева којима су MSCs апликоване 24 сата након имплантације тумора у поређењу са мишевима којима су MSCs апликоване 14 дана након имплантације тумора.
7. H₀ хипотеза: Нема разлике у концентрацији проинфламацијских (TNF- α , IFN- γ) и антиинфламацијских цитокина (TGF- β и IL-10) у плазми мишева који су примили MSCs 24h након имплантације тумора у поређењу са мишевима којима MSCs нису апликоване након имплантације тумора.
- H₁ хипотеза: Постоји значајна разлика у концентрацији проинфламацијских (TNF- α , IFN- γ) и антиинфламацијских цитокина (TGF- β и IL-10) у плазми мишева који су примили MSCs 24h након имплантације тумора у поређењу са мишевима којима MSCs нису апликоване након имплантације тумора.
8. H₀ хипотеза: Нема разлике у концентрацији проинфламацијских (TNF- α , IFN- γ) и антиинфламацијских цитокина (TGF- β и IL-10) у плазми мишева који су примили MSCs 24h након имплантације тумора у поређењу са мишевима којима су MSCs апликоване 14 дана након имплантације тумора.
- H₁ хипотеза: Постоји значајна разлика у концентрацији проинфламацијских (TNF- α , IFN- γ) и антиинфламацијских цитокина (TGF- β и IL-10) у плазми мишева који су примили MSCs 24h након имплантације тумора у поређењу са мишевима којима су MSCs апликоване 14 дана након имплантације тумора.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је као први аутор објавио један рад у целини у часопису категорије M22 на једном од водећих светских језика, чиме је испунила услов за пријаву докторске дисертације:

Miloradovic D, Miloradovic D, Markovic BS, Acovic A, Harrell CR, Djonov V, Arsenijevic N, Volarevic V. The Effects of Mesenchymal Stem Cells on Antimelanoma Immunity Depend on the Timing of Their Administration. *Stem Cells Int.* 2020; 2020:8842659. **M22**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Мезенхимске матичне ћелије су адултне, мултипотентне матичне ћелије које се налазе у готово свим постнаталним ткивима (1). Сматра се да су MSCs, као ћелије мезодермалног порекла, саставни део туморске строме и да заједно са осталим ћелијама туморске микросредине (малигним ћелијама, фибробластима, перипитима и ендотелним ћелијама) секретују трофичне факторе раста и имунски и ангио-модулативске молекуле који регулишу прогресију тумора (2). Једна од карактеристика MSCs је да експримирају велики број хемокинских рецептора који им обезбеђују снажан тропизам према туморском ткиву (3), па тако након системске примене ове ћелије инфилтришу туморску микро средину у којој регулишу експанзију малигнућелија и антитуморски имунски одговор јукстакриним и паракриним начинима (4). MSCs модулирају фенотип и функцију свих имунских ћелија које играју важну улогу у антитуморском имунском одговору (5). MSCs регулишу антиген-презентујућа својства макрофага и дендритских ћелија (енгл. *Dendritic Cells* - DCs), цитотоксичност ћелија урођених убица (енгл. *Natural Killer*- NK), CD8+ Т лимфоцита (енгл. *Cytotoxic T lymphocytes*- CTLs) као и производњу цитокина у CD4+ Т помагачким лимфоцитима (5). Механизми одговорни за модулацију антитуморског имунског одговора мезенхимским матичним ћелијама још увек нису познати.

Цитокини присутни у туморској микро средини могу да утичу на промену фенотипа и функције MSCs (9). Мале концентрације фактора некрозе тумора α (енгл. *Tumor Necrosis Factor α* , TNF- α) и интерферона γ (енгл. *Interferon γ* , IFN- γ) индукују про-инфламацијски и антитуморски фенотип MSCs, док велике концентрације ових цитокина индукују имуносупресивни и протуморски фенотип ових ћелија (9). Концентрације TNF- α , IFN- γ као и других имуномодулативских цитокина се мењају у микро средини тумора током раста и прогресије тумора и могу утицати на фенотип и функцију тумор-инфилтрисаних MSCs (9).

2.5. Значај и циљ истраживања

Механизми одговорни за модулацију антитуморског имунског одговора мезенхимским матичним ћелијама још увек нису познати. У том смислу, испитивањем механизма помоћу којих MSCs модулирају антитуморски имунски одговор, када се апликују у различитим фазама прогресије тумора би помогло у процени прогнозе и исхода болести.

Циљ истраживања

Основни циљ овог истраживања је да се испита да ли је време примене MSCs од пресудне важности за модулацију антитуморског имунског одговора и прогресију тумора.

У складу са овим циљем поставили смо следеће експерименталне задатке:

1. Пратити раст тумора у зависности од времена примене MSCs;
2. Одредити разлику у преживљавању мишева у зависности од различите фазе туморског раста током које су апликоване MSCs;
3. Испитати утицај времена примене MSCs на фенотип и функционалне карактеристике тумор-инфилтришућих имунских ћелија;
4. Испитати утицај времена примене MSCs на системске концентрације цитокина;

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

MSCs су адултне, мултипотентне матичне ћелије које се налазе у готово свим постнаталним ткивима. Сматра се да су MSCs, као ћелије мезодермалног порекла, саставни део туморске строме и да заједно са осталим ћелијама туморске микросредине (малигним ћелијама, фибробластима, перицитима и ендотелним ћелијама) секретују трофичне факторе раста и имунски и ангио-модулацијске молекуле који регулишу прогресију тумора. Једна од карактеристика MSCs је да експримирају велики број хемокинских рецептора који им обезбеђују снажан тропизам према туморском ткиву, па тако након системске примене ове ћелије инфилтришу туморску микро средину у којој регулишу експанзију малигнућих ћелија и антитуморски имунски одговор јукстакриним и паракриним начинима. MSCs модулирају фенотип и функцију свих имунских ћелија које играју важну улогу у антитуморском имунском одговору. MSCs регулишу антиген-презентујућа својства макрофага и дендритских ћелија (енгл. Dendritic Cells - DCs), цитотоксичност ћелија урођених убица (енгл.

Natural Killer- NK), CD8+ T лимфоцита (енгл. Cytotoxic T lymphocytes- CTLs) као и производњу цитокина у CD4+ T помагачким лимфоцитима. Модулација антитуморског имунског одговора мезенхимским матичним ћелијама истражена је у великом броју експерименталних студија које документују опречне резултате- неке студије показују да MSCs сузбијају антитуморски имунски одговор и појачавају прогресију тумора, док су друге студије показале да терапија MSCs погодује развоју снажног антитуморског имунског одговора који инхибира пролиферацију малигнућ ћелија. Механизми одговорни за модулацију антитуморског имунског одговора мезенхимским матичним ћелијама још увек нису познати.

Цитокини присутни у туморској микросредини могу да утичу на промену фенотипа и функције MSCs. Мале концентрације фактора некрозе тумора α (енгл. Tumor Necrosis Factor α , TNF- α) и интерферона γ (енгл. Interferon γ , IFN- γ) индукују проинфламацијски и антитуморски фенотип MSCs, док велике концентрације ових цитокина индукују имуносупресивни и протуморски фенотип ових ћелија. Концентрације TNF- α , IFN- γ као и других имуномодулацијских цитокина се мењају у микросредини тумора током раста и прогресије тумора и могу утицати на фенотип и функцију тумор-инфилтрисаних MSCs. У складу са наведеним подацима, у овом истраживању ће се испитати да ли MSCs апликоване у различитим фазама прогресије меланома различитим механизмима модулирају антитуморски имунски одговор и на различите начине утичу на раст и прогресију тумора.

2.7. Метод истраживања

2.7.1. Врста студије

Експериментална студија на животињама *in vivo*.

2.7.2. Експерименталне животиње

У студији ће се користити су мишеви соја C57BL/6, стари 8 до 12 недеља, оба пола (n= 200). Животиње ће бити изложене стандардној исхрани са неограниченим приступом храни и води у условима уобичајне температуре (22-25⁰С) и влажности ваздуха (50%) са дневно/ноћним циклусима од 12 часова. Експерименте на животињама одобрила је Етичка комисија за заштиту добробити огледних животиња Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (број одобрења: 01-2247).

2.7.3. Узорковање

Животиње ће се сврстати у четири групе:

1. E1: C57BL/6 мишеви, којима ће се субкутано у леву слабину апликовати 5×10^5 ћелија B16F10 ресуспендованих у 200 μ l PBS-а, а 24 сата касније интравенски ће се апликовати 5×10^5 MSCs ресуспендованих у 200 μ l PBS-а (n= 50)
2. E2: C57BL/6 мишеви, којима ће се субкутано у леву слабину апликовати 5×10^5 ћелија B16F10 ресуспендованих у 200 μ l PBS-а, а 14 дана касније интравенски ће се апликовати 5×10^5 MSCs ресуспендованих у 200 μ l PBS-а (n= 50)
3. K1: C57BL/6 мишеви, којима ће се субкутано у леву слабину апликовати 5×10^5 ћелија B16F10 ресуспендованих у 200 μ l PBS-а, а 24 сата касније интравенски ће се апликовати 200 μ l PBS-а (n= 50)
4. K2: C57BL/6 мишеви, којима ће се субкутано у леву слабину апликовати 5×10^5 ћелија B16F10 ресуспендованих у 200 μ l PBS-а, а 14 дана касније интравенски ће се апликовати 200 μ l PBS-а (n= 50)

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле: мишеви соја C57BL/6 којима је имплантиран малигни меланом и MSCs.

Зависне варијабле:

- преживљавање експерименталних животиња
- волумен тумора
- фенотип имунских ћелија
- концентрација цитокина у плазми
- број метастаза у плућима и јетри

Ћелијска линија мишјег меланома

У експериментима ће се користити варијетет ћелијске линије мишјег меланома B16F-10 (*American Type Culture Collection CRL-6475, ATCC, USA*), сингене за мишеве соја C57BL/6. За култивацију наведене линије меланома користиће се DMEM (енгл. *Dulbecco's Modified Eagles Medium, DMEM*) у којем ће бити додаван фетални говећи серум (енгл. *Fetal Bovine Serum, FBS*), глутамин, пеницилин, стрептомицин и неесенцијалне аминокиселине. Малигне ћелије ће се узгајати у инкубатору на 37°C са 5% CO₂. У експериментима ће се користити ћелије четврте пасаже.

Ћелијска линија мишјих мезенхималних матичних ћелија

У експериментима ће се користити комерцијална линија мишјих мезенхималних матичних ћелија изолованих из костне срже мишева соја C57BL/6 (*Gibco/Invitrogen*, кат. број S1502-100). Ћелије ће се узгајати у медијуму DMEM који садржи 2 mmol/l L-глутамина, неесенцијалне аминокиселине (1 mmol/l), 100 IU/ml penicillina G и 100 µg/ml streptomycina и 10% феталног телећег серума (FBS, енгл. Fetal Bovine Serum). Ћелије ће се инкубирати на 37C° у атмосфери 5% CO₂, а у складу са препорукама произвођача (*Gibco/Invitrogen*).

Имплантација мишјег меланома

Мишевима ће се субкутано апликовати 5×10^5 B16F10 ћелија ресуспендованих у 200 µl PBS-а у циљу индуковања експерименталног модела меланома.

Мишеви ће се пратити 28 дана, након чега ће се жртвовати и изоловати тумори за одговарајуће биохемијске и имунолошке анализе. Величина тумора ће се мерити свакодневно калипером, при чему ће се запремина тумора мерити по формули: $V = 4/3\pi * a/2 * b/2 * c/2$ (a = length, b = width, and c = thickness), где је V-запремина тумора; Length- дужина; Width- ширина; C- дебљина; а телесна маса мишева ће се мерити на свака 3 дана. Мишеви ће бити жртвовани 28 дана након индукције болести.

Патохистолошка анализа ткива јетре и плућа

Након жртвовања мишевима ће се извадити јетра, плућа и примарни тумор од којих ће се правити парафински исечци и бојити хематоксилин/еозином. Под светлосним микроскопом семиквантитативно одређиваће се присуство и број метастаза у паренхиму плућа и јетри.

Израда патохистолошких препарата

Непосредно након изолације, ткиво јетре и плућа ће бити фиксирано у 10% раствору формалдехида на собној температури. Волумен фиксатива ће бити 10 пута већи од волумена ткива. Обрађено ткиво ће бити укалупљено у парафинске блокове и помоћу микротоме биће исечени резови дебљине 5 µm. Пресеци ће бити нанесени на предметна стакла, а затим бојени.

Бојење хематоксилином и еозином (H&E)

Препарати ће се обрађивати и бојити методом по Heidenhain-у и сагласно препорукама Gurr-a.

Мерење концентрација цитокина у плазми

Концентрације цитокина (TNF- α , IFN- γ , TGF- β и IL-10) ће се мерити у плазми мишева ELISA методом према утврђеном протоколу произвођача (*R&D Systems, Minneapolis, MN, USA*). Крв ће се узимати из фацијалне вене након 24 сата, 14 дана и 28 дана од имплантације меланомских ћелија.

Изолација имунских ћелија из тумора

Након жртвовања мишева изоловаће се примарни тумор. Изоловано туморско ткиво ће се уситнити и инкубирати у медијуму за ензимску дигестију који ће садржавати 1mg/ml колагеназе I, 1mM EDTA и 2% FBS-a. Након двочасовне инкубације на 37°C уз мешање на 150rpm, медијум за ензимску дигестију замениће 10ml претходно загрејани 0.25% трипсин и инкубираће се 3 минута. Затим ће уследити ишкубација у ензиму DNA-за I, 1 минут на 37°C уз мешање на 150rpm. Пропуштањем кроз ћелијско сито (*Cell strainer, BD Pharmingen, USA*) добиће се суспензија појединачних ћелија.

Анализа фенотипа ћелија изолованих из тумора

Проточном цитометријом, употребом моноклонских анти-мишјих антитела за бојење мембранских маркера (F4/80, CD4, CD8, CD11c, NK1.1, CD80, IA, granzyme B and Fas ligand (FasL) *BD Pharmingen, USA*) обележених различитим флуоресцентним бојама (allophycocyanin, APC; fluorescein, FITC; PE, phycoerythrin; PerCP, peridinin chlorophyl protein complex) одредити ће се процентуални удео и укупан број NK1.1+NK ћелија, FasL (CD178)+NK ћелија, granzyme B+ NK ћелија, F4/80+ I-A+ макрофага, CD11c+ I-A+ дендритских ћелија, CD11c+ CD80+ дендритских ћелија које експримирају костимулаторне молекуле, CD4+ ћелија, CD8+ цитотоксичних Т лимфоцита, granzyme B+ CD8+ цитотоксичних Т лимфоцита.

Коришћењем примарно коњугованих моноклонских анти-мишјих анти-citoкинских антитела (TNF- α , IFN- γ , IL-12, IL-4, и IL-17; *BD Pharmingen*) за интрацелуларно бојење одредиће се процентуални удео и укупан број мембрански обележених IFN- γ -продукујућих NK ћелија, IL-12- продукујућих F4/80+макрофага, IFN- γ -, TNF- α - и IL-17- продукујућих CD4+Th1 ћелија, TNF- α и IL-17- продукујућих CD4+Th17 ћелија, и

IFN- γ -, TNF- α - и IL-17-продукујућих CD8⁺ цитотоксичних Т лимфоцита. За интрацелуларно бојење изоловане ћелије ће се инкубирати 4h на 37°C у присуству 5 μ g/ml phorbol 12-myristate 13-acetate-a (PMA) (*Sigma-Aldrich St.Louis, USA*), 5 μ g/ml ionomycin-a (*Sigma-Aldrich St.Louis, USA*) и 0.8 μ l Golgi plug (*BD Biosciences, San Jose, CA, USA*). Након инкубације, ћелије ће се фиксирати и пермеабелизовати употребом BD Cytofix/Cytoperm kit-a (*BD Biosciences, San Jose, CA, USA*) и обележити одговарајућим анти-мишјим моноклонским антителима коњугованим са флуорохром.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Величина узорка је утврђена на основу података о вредностима за серумске концентрације цитокина (TNF- α , TGF- β , IL-10 и IFN- γ), односно процента моноклеарних ћелија које продукују ове цитокине, публикованих 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 узорка), 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 (за серумски ниво IL-10, SE=0.1), утврђен је број експерименталних животиња према групама и он износи 50 за сваку од група.

2.7.6. Статистичка анализа

Подаци ће бити приказани као Mean \pm SE. За анализу података користиће се параметријски или непараметријски тестови у односу на нормалност расподеле, која ће бити одређена Kolmogorov-Smirnov тестом. Статистички значајна разлика у добијеним вредностима између група износиће $p < 0.05$, док ће статистички веома значајна разлика бити $p < 0.01$. За статистичку обрада свих података користиће се SPSS пакет, верзија 25.0. *Microsoft Excel* ће се користити за креирање графикана и табела.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да ће MSCs апликоване 24 сата након имплантације поспешити анти-туморски имунитет и успорити раст тумора, док ће MSCs апликоване 14 дана након имплантације тумора, инхибирати антитуморски имунитет и поспешити раст тумора.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Мезенхимске матичне ћелије (енгл. *Mesenchymal Stem Cells*- MSCs) су адултне, мултипотентне матичне ћелије које након системске примене инфилтришу туморску микрооколину и учествују у регулацији експанзије малигних ћелија и модулацији антитуморског имунског одговора као што и цитокини присутни у микросредини тумора могу да утичу на промену фенотипа и функције MSCs. Променљивост концентрација ових цитокина током раста и прогресије тумора и утиче на антитуморски имунски одговор. Циљ овог истраживања је да се испита да ли MSCs апликоване у различитим фазама прогресије тумора мењају функционални фенотип и тако различитим механизмима модулишу антитуморску имуност и утичу на прогресију тумора.

MSCs ће бити интравенски апликоване мишевима алтернативно 24 сата и 14 дана након имплантирања туморских ћелија. Анализираће се раст тумора, промена телесне тежине и преживљавање мишева. Фенотип тумор- инфилтришућих имунских ћелија ће се одредити проточном цитометријом, а промене у концентрацији цитокина који регулишу антитуморски имунски одговор ће се одредити имуноензимским есејом. Очекује се да ће MSCs апликоване током почетне фазе развоја тумора подстаћи антитуморске имунске механизме и успорити раст тумора, док ће MSCs апликоване током прогресивне фазе развоја тумора инхибирати ове механизме и поспешити раст тумора.

3 Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације се предлаже проф. др Владислав Воларевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Медицинска генетика. Проф. др Владислав Воларевић испуњава услов за ментора докторске дисертације у складу са стандардом 9 за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама. Проф. др Владислав Воларевић се бави испитивањем имуномодулаторних карактеристика мезенхимских матичних ћелија и водећи је аутор у великом броју научних публикација које су у вези са предложеном темом докторске дисертације.

3.1. Компетентност ментора

Радови проф. др Владислава Воларевића који су у вези са предложеном темом докторске дисертације

1. Gazdic M, Simovic Markovic B, Jovicic N, Misirkic-Marjanovic M, Djonov V, Jakovljevic V, Arsenijevic N, Lukic ML, **Volarevic V**. Mesenchymal Stem Cells Promote Metastasis of Lung Cancer Cells by Downregulating Systemic Antitumor Immune Response. *Stem Cells Int*. 2017;2017:6294717.
2. Milosavljevic N, Gazdic M, Simovic Markovic B, Arsenijevic A, Nurkovic J, Dolicanin Z, Jovicic N, Jeftic I, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, **Volarevic V**. Mesenchymal stem cells attenuate liver fibrosis by suppressing Th17 cells - an experimental study. *Transpl Int*. 2018;31: 102-115.
3. Gazdic M, Simovic Markovic B, Vucicevic L, Nikolic T, Djonov V, Arsenijevic N, Trajkovic V, Lukic ML, **Volarevic V**. Mesenchymal stem cells protect from acute liver injury by attenuating hepatotoxicity of liver natural killer T cells in an inducible nitric oxide synthase- and indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent manner. *J Tissue Eng Regen Med*. 2018; 12: e1173-e1185.
4. Gazdic M, Markovic BS, Arsenijevic A, Jovicic N, Acovic A, Harrell CR, Fellabaum C, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, **Volarevic V**. Crosstalk between mesenchymal stem cells and T regulatory cells is crucially important for the attenuation of acute liver injury. *Liver Transpl*. 2018 May;24(5):687-702..
5. Nikolic A, Simovic Markovic B, Gazdic M, Randall Harrell C, Fellabaum C, Jovicic N, Djonov V, Arsenijevic N, L Lukic M, Stojkovic M, **Volarevic V**. Intraperitoneal administration of mesenchymal stem cells ameliorates acute dextran sulfate sodium-induced colitis by suppressing dendritic cells. *Biomed Pharmacother*. 2018 Apr;100:426-432.
6. Milosavljevic N, Gazdic M, Simovic Markovic B, Arsenijevic A, Nurkovic J, Dolicanin Z, Djonov V, Lukic ML, **Volarevic V**. Mesenchymal stem cells attenuate acute liver injury by altering ratio between interleukin 17 producing and regulatory natural killer T cells. *Liver Transpl*. 2017 Aug;23(8):1040-1050.
7. Simovic Markovic B, Gazdic M, Arsenijevic A, Jovicic N, Jeremic J, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, **Volarevic V**. Mesenchymal Stem Cells Attenuate Cisplatin-Induced Nephrotoxicity in iNOS-Dependent Manner. *Stem Cells Int*. 2017;2017:1315378.
8. Simovic Markovic B, Nikolic A, Gazdic M, Nurkovic J, Djordjevic I, Arsenijevic N, Stojkovic M, Lukic ML, **Volarevic V**. Pharmacological Inhibition of Gal-3 in

Mesenchymal Stem Cells Enhances Their Capacity to Promote Alternative Activation of Macrophages in Dextran Sulphate Sodium-Induced Colitis. *Stem Cells Int.* 2016;2016:2640746.

9. Ljubic B, Milovanovic M, **Volarevic V**, Murray B, Bugarski D, Przyborski S, Arsenijevic N, Lukic ML, Stojkovic M. Human mesenchymal stem cells creating an immunosuppressive environment and promote breast cancer in mice. *Sci Rep.* 2013;3:2298.
10. Potez M, Fernandez-Palomo C, Bouchet A, Trappetti V, Donzelli M, Krisch M, Laissue J, **Volarevic V**, Djonov V. Synchrotron Microbeam Radiation Therapy as a New Approach for the Treatment of Radioresistant Melanoma: Potential Underlying Mechanisms. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2019 Dec 1;105(5):1126-1136.

4 Научна област дисертације

Медицина

5 Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Миодраг Стојковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика, председник комисије;
2. **Проф. др Биљана Љујић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика, члан;
3. **Проф. др Ивана Новаковић**, редовни професор Медицинског Факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Генетика, члан;

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

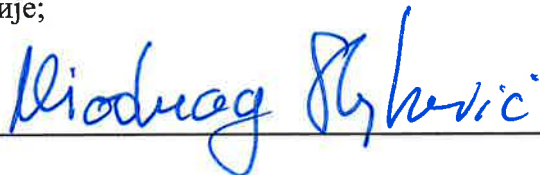
На основу увида у резултате досадашње научно- истраживачке активности и публиковане радове, Комисија закључује да кандидат Драгана Милорадовић испуњава све услове прописане Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука да приступи изради докторске дисертације.

Комисија је утврдила да се ради о оригиналном научном делу које има за циљ да испита да ли је време примене MSCs од пресудне важности за модулацију антитуморског имунског одговора и прогресију тумора. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија је јасна.

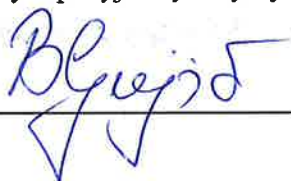
Комисија предлаже Научно- наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Драгане Милорадовић: „Зависност модулације антитуморског имунског одговора од времена примене мезенхимских матичних ћелија“.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

1. **Проф. др Миодраг Стојковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика, председник комисије;



2. **Проф. др Биљана Љујић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика, члан;



3. **Проф. др Ивана Новаковић**, редовни професор Медицинског Факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Генетика, члан;



У Крагујевцу, мај 2021.