

ПРИМЉЕНО:		15.03.2022	
Орг. јед.			
05	2661		

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, број IV-03-57/20 од 04.02.2022. године именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Сање Зорнић под називом:

„Антитуморска и антимикуробна активност новосинтетисаних комплекса платине(II) и паладијума(II)“

Чланови Комисије су:

1. Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија; Онкологија, председник
2. Проф. др Марија Живковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Органска хемија, члан
3. Доц. др Божидар Чобелић, доцент Хемијског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Општа и неорганска хемија, члан
4. Доц. др Александар Арсенијевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Онкологија, члан
5. НС Бојана Симовић Марковић, научни сарадник Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Онкологија, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу:

2. Извештај о научној заснованости теме докторске дисертације

2.1. Кратка биографија кандидата

Кандидат др Сања Зорнић је рођена 08.08.1976 године у Крагујевцу. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу је уписала школске 1995/96 године, а 1998. године наставила студије на Медицинском факултету Универзитета у Београду, где је дипломирала школске 2001/2002. године са просечном оценом 9,14. Од 2003. до 2006. године радила је као професор стручних предмета у Медицинској школи “Сестре Нинковић” у Крагујевцу. Од 2006. године ради као клинички лекар на Инфективној клиници у Универзитетском клиничком центру Крагујевац. Године 2011. завршава специјализацију из Микробиологије са паразитологијом на Медицинском факултету Универзитета у Београду, са одличном оценом и од тада до данас ради као специјалиста

микробиологије у Универзитетском клиничком центру Крагујевац, у Одсеку за микробиологију, при Служби за лабораторијску дијагностику. У септембру 2021. године завршила је студије уже специјализације из области Бактериологија на Медицинском факултету у Београду и тиме стекла звање супспецијалисте бактериологије. Докторанд је на завршној години докторских академских студија на изборном подручју Имунологија, инфекција и инфламација Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Антитуморска и антимикробна активност новосинтетисаних комплекса платине(II) и паладијума(II)”

Предмет: Испитивање туморицидног и антимикробног ефекта комплекса платине (II) и паладијума(II), као и расветљавање молекулских механизма потенцијалне антитуморске активности.

Хипотеза: Новосинтетисани комплекси платине(II) и паладијума(II) показују значајну цитотоксичку активност на различитим ћелијама тумора мишјег и хуманог порекла и остварују антибактеријски и антигљивични ефекат на различитим сојевима испитиваних врста микроорганизама.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат др Сања Зорнић публиковала је један рад у часопису категорије M51 у коме је први аутор и тиме је испунила услов за пријаву теме докторске дисертације:

Zornic S, Lukovic B, Jevtovic A, Dimitrijevic DJ, Simovic Markovic B, Pantic J, Radosavljevic DG, Arsenijevic N. Overview of host defense peptides with promising anti-breast cancer activity. *Ser J Exp Clin Res.* 2021; doi: 10.2478/sjecr-2021-0052. **M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Брзорастућа инциденција и морталитет пацијената са малигним болестима широм планете указују на неопходност интензивних истраживања у области развоја антитуморске терапије која се базира и на тестирању нових терапеутика. Комплекси прелазних метала, укључујући комплексе платине (Pt) и паладијума (Pd), су већ деценијама предмет бројних истраживања захваљујући, пре свега, значајном антипролиферативном и цитотоксичком ефекту који остварују код различитих врста тумора. Због варијабилног оксидационог статуса јона метала и способности везивања различитих лиганата, постоји готово неисцрпна могућност њихове хемијске синтезе и модификације, а све у циљу проналажења ефикаснијих и стабилнијих једињења, која притом индукују мање нежељених ефеката. Осим мононуклеарних комплекса прелазних метала који садрже једно метално језгро, тестирају се и бројни полинуклеарни комплекси за које се сматра да могу имати другачију реактивност и боља биолошка својства.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај истраживања

Планираним истраживањем би се детаљно тестирала тумороцидна и антимикуробна активност новосинтетисаних комплекса Pt(II) и Pd(II). Добијени резултати би могли да укажу на могућност примене комплекса Pt(II) и Pd(II) у експерименталној терапији тумора, као и бактеријских и гљивичних инфекција.

Циљ истраживања

Главни циљ истраживања је да се испита туморицидни и антимикуробни ефекат комплекса Pt(II) и Pd(II), као и да се расветле молекулски механизми потенцијалне антитуморске активности.

У складу са циљем дефинисани су следећи експериментални задаци:

1. Карактеризација новосинтетисаних комплекса Pt(II) и Pd(II)
2. Анализирати цитотоксички потенцијал комплекса Pt(II) и Pd(II) на линијама ћелија различитих врста солидних тумора мишјег и хуманог порекла
3. Испитати ефекат комплекса Pt(II) и Pd(II) на тип ћелијске смрти туморских ћелија и испитати молекулске механизме
4. Анализирати ефекат комплекса Pt(II) и Pd(II) на ћелијски циклус туморских ћелија и испитати експресију молекула укључених у регулацију ћелијског циклуса
5. Утврдити антимикуробно дејство комплекса Pt(II) и Pd(II) на сојевима више врста микроорганизама

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Бројне студије указују на то да је главни механизам цитотоксичког дејства различитих комплекса Pt, попут цисплатине и њених аналога, везивање за молекулу DNK (dezoksiribonukleinske kiseline) што утиче на промену структуре и конформације DNK, инхибицију репликације и покретање различитих унутарћелијских сигналних путева са следственим оштећењем туморске ћелије. Комплекси Pt индукују оксидативни стрес, покрећу апоптозу, заустављају ћелијски циклус и испољавају антиангиогени ефекат. Интересантно је да, осим некрозе и апоптозе, цисплатина и њени аналози индукују још најмање три механизма смрти туморских ћелија и то: некроптозу, фероптозу и аутофагију. Такође, постоје подаци да комплекси Pt стимулишу антитуморски имунски одговор.

Због сличности са хемијским својствима и биолошким ефектима са комплексима Pt, бројни новосинтетисани комплекси Pd се интензивно тестирају као потенцијално ефикасни цитотоксички агенси који показују мању токсичност за нетуморска ткива од комплекса Pt. Показано је да се различити комплекси Pd(II) ковалентно везују за азотне базе молекула DNK, активирају спољашњи и унутрашњи пут апоптозе, блокирају ћелијски циклус и индукују продукцију реактивних кисеоничних једињења (енгл. *Reactive oxidative species*, ROS) у туморским ћелијама, као што су троструко негативне ћелије карцинома дојке или ћелије промијелоцитне леукемије. Међутим,

главни недостаци комплекса Pd који ограничавају њихову потенцијалну примену су хемијска нестабилност и брза измена лигананда, што утиче на њихову инактивацију *in vivo*.

У циљу превазилажења проблема растуће резистенције бактерија на постојеће антибиотике и проналажења алтернативе за лечење инфективних болести, комплекси прелазних метала су препознати и као могући антимикуробни агенси. Међутим, бројне студије су показале да је антимикуробна активност комплекса Pt и Pd веома варијабилна, док су комплекси Pd показали значајнији антимикуробни ефекат од комплекса Pt. Тако су, на пример, комплекси Pd(II) са тетрациклинама показали бољи антимикуробни ефекат од ових антибиотика на сојевима *Escherichia coli*, док су новосинтетисани комплекси Pt(II) са бензимидазолом били умерено ефикасни против више врста Gram- позитивних и Gram- негативних бактерија.

Због свега наведеног циљ овог истраживања је карактеризација и тестирање туморицидне и антимикуробне активности новосинтетисаних комплекса Pt(II) и Pd(II).

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Експериментална студија ће се извести *in vitro* на линијама ћелија анималног и хуманог порекла, као и на референтним сојевима микроорганизама. Све планиране процедуре ће се извести уз одобрење Етичке комисије (01-14 555, од 13.12.2021. године), и Етичког одбора Факултета медицинских наука у Крагујевцу (01-14395 од 10.12.2021. године). Антимикуробна активност комплекса Pt(II) и Pd(II) ће се испитати у Микробиолошкој лабораторији Универзитетског клиничког центра Крагујевац уз одобрење Етичког одбора Универзитетског клиничког центра Крагујевац (03/21-447 од 29.12.2021. године).

2.7.2. Популација која се истражује

А) Новосинтетисани комплекси Pt(II) и Pd(II)

У студији ће се користити комплекси Pt(II) и Pd(II) који ће се синтетисати на Институту за хемију Природно математичког факултета Универзитета у Крагујевцу:

Комплекси Pt(II):

- $Pt1 = \{[Pt(L1)Cl]_2 - \mu pydz\} Cl_2$ L1 = 1,2p (1,2-propylenediamine)
- $Pt2 = \{[Pt(L2)Cl]_2 - \mu pydz\} Cl_2$ L2 = ibn (isobutylenediamine)
- $Pt3 = \{[Pt(L3)Cl]_2 - \mu pydz\} Cl_2$ L3 = 1,3-pd (1,3-propylenediamine)
- $Pt4 = \{[Pt(L4)Cl]_2 - \mu pydz\} Cl_2$ L4 = 1,3-pnd (pentanediamine)

Комплекси Pd(II):

- $Pd1 = \{[Pd(en)Cl]_2 - (\mu-L1)\} (NO_3)_2$ L1 = pz (pirazin)
- $Pd2 = \{[Pd(en)Cl]_2 - (\mu-L2)\} (NO_3)_2$ L2 = pm (pirimidin)

- Pd3 = $\{[\text{Pd}(\text{en})\text{Cl}]_2 - (\mu\text{-L3})(\text{NO}_3)_2\}$ L3 = pydz (piridazin)
- Pd4 = $\{[\text{Pd}(\text{en})\text{Cl}]_2 - (\mu\text{-L4})(\text{NO}_3)_2\}$ L4 = phz (fenazin)

Уз то, у свим експериментима користиће се цисплатина као референтни цитостатик.

Б) Линије туморских ћелија анималног и хуманог порекла

У студији ће се користити панел линија туморских ћелија и то: мишјег меланома (B16-F10, ATCC CRL-6475), мишјег карцинома дојке (4T1, ATCC CRL-2539) и плућа (LLC1, ATCC CRL-1642), као и ћелије меланома (A375, ATCC CRL-1619), карцинома дојке (MDA-MB-468, ATCC HTB-132) и плућа хуманог порекла (A549, ATCC CCL-185). У циљу процене селективности комплекса користиће се и линија фибробласта хуманог порекла (MRC-5, ATCC CCL-171). Све наведене ћелије биће узгајане према стандардном протоколу. У свим експериментима користиће се само ћелијска суспензија са $\geq 95\%$ вијабилних ћелија. За процену вијабилности ћелија користиће се витална боја *trypan-blue*.

В) Референтни сојеви микроорганизама

За испитивање антимикробне активности комплекса Pt(II) и Pd(II) користиће се следећи референтни сојеви микроорганизама: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228), *Staphylococcus saprophyticus* (ATCC 15305), *Rhodococcus equi* (ATCC 6939), *Listeria monocytogenes* (ATCC 19112), *Streptococcus pneumoniae* (ATCC 49619), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Proteus mirabilis* (ATCC 25933), *Candida albicans* (ATCC 10231) и *Saharomices cerevisiae* (ATCC 9763)

2.7.3. Узорковање

Карактеризација комплекса Pt(II) и Pd(II)

Карактеризација комплекса Pt(II) и Pd(II) испитивањем интеракције са говеђим серум албумином и апсорпционом спектроскопијом ће се обавити на Институту за хемију Природно математичког факултета Универзитета у Крагујевцу.

Интеракција Pt(II) и Pd(II) са BSA. У студији ће бити испитана интеракција новосинтетисаних комплекса са говеђим серум албумином (енгл. *Bovine Serum Albumin*, BSA) тако што ће се анализирати промене у интензитету флуоресценције раствора BSA након додавања испитиваних комплекса. Конструисаће се *Stern-Volmer*-ов график и израчунаће се вредност динамичке *Stern-Volmer*-ове константе (K_{sv}) и константе гашења флуоресценције (k_d) за интеракцију комплекса са BSA, као и бројне вредности константе везивања (K_a) и број везујућих места (n) албумина за испитивани комплекс.

Апсорпциона спектроскопија. UV-Vis спектрофотометријом ће се проценити константа везивања (стабилности) молекула DNK за јон метала. Снимаће се UV-Vis спектри комплекса у

одсуству и присуству различитих концентрација СТ (encl. *Calif Thymus*)-DNK, $(0,0-1,4) \cdot 10^{-4}M$ ($[комплекс]/[СТ-DNK]= 0,0-1,4$). Procениће се интензитет апсорпционог максимума и израчунати унутрашња константа везивања K_b , на основу којих ће се закључити о врсти интеракције испитиваних комплекса са молекулом DNK.

Тестови за испитивање цитотоксичности

МТТ тест. Припремиће се суспензија туморских ћелија (5×10^4 ћелија/ml медијума) а онда ће се у свако бунарче микротитар плоче сипати по 5×10^3 ћелија/100 μ l медијума и инкубирати у стандардним условима. Следећег дана, туморске ћелије ће се третирати испитиваним комплексима Pt(II) и Pd(II) у двоструко растућим концентрацијама и то 48h и 72h. Цисплатина ће се користити као референтни цитостатик. По истеку инкубације, ћелије ће се затим изложити раствору МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромида). Интензитет боје је пропорционалан броју живих ћелија и одређиваће се колориметријски. Оптичка густина (енгл. *Optical Density*, OD) ће се одредити на таласној дужини од 595nm на уређају *Microplate multimode detector, Zenyth 3100*. Процент вијабилних ћелија ће се израчунати према формули:

$$\% \text{ вијабилних ћелија} = (E - B) / (K - B) \times 100$$

E- ћелије третиране испитиваним комплексима и цисплатином (апсорбанца); B- контрола-bleak (апсорбанца); K- нетретиране ћелије (апсорбанца).

LDH (енгл. *Lactate DeHydrogenase*) тест. Супернатанту туморских ћелија које су претходно 24 сата биле изложене комплексима Pt(II) и Pd(II) или цисплатини и то у двоструко растућим концентрацијама додаће се радни раствор LDH кита *In Vitro Toxicology Assay Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)*. После истека инкубације, одредиће се оптичка густина на уређају *Microplate multimode detector, Zenyth 3100*.

Процент мртвих ћелија ће се израчунати према формули:

$$\% \text{ мртвих ћелија} = (E - B) / ((T - B) - (K - B)) \times 100$$

E- ћелије третиране са испитиваним комплексима или цисплатином (апсорбанца); B- активност LDH ензима у супернатанту (апсорбанца); T- ћелије третиране са тритоном X (апсорбанца); K- контролне нетретиране ћелије (апсорбанца).

Процена типа ћелијске смрти у третираним туморским ћелијама

Квантитативно испитивање апоптотске и некротичне смрти. Туморске ћелије третиране испитиваним комплексима ће се обојити коришћењем *Annexin-V-FITC* детекционог кита (*BD Biosciences, Pharmingen*). Онда ће се проточном цитометријом анализирати експресија *Annexin-a V* и пропидијум јодида (енгл. *Propidium iodide*, PI) на ћелијама и на тај начин одредити процентуална заступљеност апоптотских и некротичних туморских ћелија.

Анализа експресије молекула укључених у регулацију апоптозе, некроптозе и аутофагије. Методом проточне цитометрије анализираће се експресија молекула каспазе 3, Bcl-2 и Вах у третираним туморским ћелијама и то након инкубације са одговарајућим флуорохром конјугованим моноклонским антителима. RT-PCR методом уз коришћење одговарајућих прајмера одредиће се експресија iRNK (informazione ribonukleinske kiseline) за синтезу каспазе 3, Bcl-2, Вах, HMGB1, beclin-1, RIPK1 и RIPK3 у туморским ћелијама након излагања испитиваним комплексима.

Процена антипролиферативне активности тестираних комплекса

Анализа ћелијског циклуса. Дистрибуција молекула DNK и ћелијски циклус туморских ћелија након излагања испитиваних комплекса биће анализирани методом проточне цитометрије. Према упутству произвођача третиране туморске ћелије ће се обојити *Ruby* бојом, а затим ће се одредити проценат ћелија у одређеној фази ћелијског циклуса.

Евалуација антипролиферативне активности. Проточном цитометријом и RT-PCR методом уз коришћење одговарајућих флуорохром конјугованих моноклонских антитела или прајмера анализираће се експресија Ki67, циклина и инхибитора комплекса циклина и циклин зависних киназа, и то на нивоу протеина или на нивоу iRNK, у третираним туморским ћелијама.

Евалуација антимикробне активности комплекса Pt(II) и Pd(II)

Микродилуциона бујон метода. Минимална инхибиторна концентрација (енгл. *Minimal inhibitory concentration*, MIC) комплекса Pt(II) и Pd(II) ће бити одређена микродилуционим бујон методом а затим ће бити одређена минимална бактерицидна/фунгицидна концентрација (енгл. *Minimal bactericidal/fungicidal concentration*, MBC/MFC). Суспензија микроорганизама ће се припремити тако што ће се узети 2-3 бактеријске колоније, односно колоније квасница, стерилном езом са чврсте подлоге након инкубације од 24 часа. Микроорганизми ће бити ресуспендовани у физиолошком раствору до густине од 0,5 McFarland-a, при чему ће се сматрати да је иницијална концентрација бактерија 10^8 cfu/ml, а гљивица 10^6 cfu/ml. Затим ће се правити разблажења до финалне концентрације 5×10^5 cfu/ml. У сваки бунарчић микротитар плоче ће се додати по 0,1ml *Mueller-Hinton* бујона (*Liophilchem, Italy*), а у бунарчиће у којима ће се испитивати гљивице додаће се 0,1ml RPMI 1640. Додаће се по 0,1ml испитиваних комплекса у први ред бунарчића (почетна концентрација 2000µg/ml) и правити њихова двострука разблажења. За сваку врсту микроорганизама ће се оставити по две колоне на микротитар плочи у које се неће додавати комплекси, једна ће бити за контролни антибиотик или антимикотик, а друга ће служити за контролу пораста микроорганизама. За *Gram*-позитивне бактерије ће се као контролни антибиотик користити ванкомицин, за *Gram*-негативне пиперацилин-тазобактам, а за гљивице флуконазол. Додаће се 10µl бактеријске/гљивичне суспензије у свако поље микротитар плоче. Након инкубације од 24h на 36,6°C до 37°C у аеробним условима за бактерије и 48h за гљивице, читаће се резултат уз помоћ инвертног огледала. Концентрација комплекса у првом бунарчићу у коме је садржај бистар представљаће MIC. По 10µl раствора из осталих бунарчића са вишим концентрацијама комплекса ће се засејати на крвни агар са 5% овчје крви (*Oxoid, Germany*),

односно на *Sabouraud-dextrose* агар за гљивице. Плоче ће се инкубирати 24h за бактерије, односно 48h за гљиве. МВC/МFC ће бити она која се налази у суспензији којом је засејана прва плоча на којој нема пораста бактеријских/гљивичних колонија, односно, прва стерилна плоча.

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле: третирање ћелија комплекса Pt(II) и Pd(II).

Зависне варијабле: проценат вијабилних ћелија, проценат мртвих ћелија, проценат ћелија у пролиферацији, експресија Ki67, каспазе 3, Bcl-2, Вах, циклина и инхибитора циклина и циклин зависних киназа у туморским ћелијама, вредности MIC, МВC и МFC.

Збуњујуће варијабле: не постоје.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Израчунавање величине студијског узорка засновано је на вредностима половине максималне инхибиторне концентрације (IC₅₀) прелиминарних тестирања цитотоксичког ефекта комплекса Pt(II) или Pd(II) на неколико ћелијских линија у растућим концентрацијама. На основу препоручене методологије, крива доза-одговор за испитивање цитотоксичког ефекта ће се одредити тестирањем сваке од концентрација испитиваног комплекса у бар трипликату. Број понављања експеримента је израчунат узимајући вероватноћу грешке алфа (α) од 0.05 и снагу студије од 80% за *Student*-ов t тест (два независна узорка), за двосмерно тестирање хипотезе, на основу статистичког програма G*Power3. Минималан број понављања тестирања 4, односно укупно 12 понављања сваке испитиване концентрације комплекса у 4 независна експеримента.

2.7.6. Статистичка анализа

Добијени резултати биће представљени као средње вредности±стандардне грешке. Статистичка значајност ће се одређивати Студентовим t тестом и ANOVA тестом за узорке који имају нормалну расподелу и *Mann-Whitney* и *Kruskal-Wallis* тестом за узорке који немају нормалну расподелу. Резултати ће бити сматрани статистички значајним када је $p < 0,05$. За статистичку обраду добијених резултата користиће се IBM програмски пакет SPSS верзија 20.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да новосинтетисани комплекси Pt(II) и Pd(II) покажу значајну цитотоксичку активност код неких врста солидних тумора мишјег и хуманог порекла што би указало на значај њиховог даљег испитивања у циљу развоја нових хемиотерапеутика. Претпоставља се да своју антитуморску активност испитивани комплекси остварују тако што спречавају пролиферацију и последично индукују смрт туморских ћелија. Очекује се да новосинтетисани комплекси Pt(II) и Pd(II) остваре и значајан антимикуробни ефекат и да као такви буду потенцијални кандидати за развој нових антимикуробних лекова.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Комплекси прелазних метала платине (Pt) и паладијума (Pd) представљају потенцијално нове хемиотерапеутике који могу имати исти терапијски ефекат у лечењу тумора, а мање нежељених дејстава у поређењу са конвенционалним цитостатицима. Уз то, забележен пораст резистентних сојева микроорганизама, а нарочито бактерија подстакао је читав низ истраживања који се односи на испитивање антимикуробне активности комплекса Pt и Pd са циљем да постану потенцијални кандидати у лечењу инфекција.

Главни циљ истраживања је да се испита антитуморски и антимикуробни ефекат новосинтетисаних комплекса Pt(II) и Pd(II), као и да се утврде потенцијални механизми антитуморске активности.

Комплекси Pt(II) и Pd(II) који ће се применити у студији биће синтетисани на Институту за хемију Природно математичког факултета Универзитета у Крагујевцу. MTT и LDH тестом ће се испититати цитотоксичка активност новосинтетисаних комплекса Pt(II) и Pd(II) на више линија туморских ћелија мишјег и хуманог порекла. У циљу процене селективности испитиваних комплекса анализираће се њихов утицај на вијабилност фибробласта хуманог порекла који ће послужити као прототип нетуморских ћелија. Анализираће се тип ћелијске смрти и потенцијални антипролиферативни ефекат комплекса Pt(II) и Pd(II) на туморским ћелијама методом проточне цитометрије и RT-PCR. Микродилуционим бујон методом испитаће се антимикуробни ефекат комплекса и одредити минимална инхибиторна концентрација (енгл. *Minimal inhibitory concentration*, MIC) и минимална бактерицидна/фунгицидна концентрација (енгл. *Minimal bactericidal/fungicidal concentration*, MBC/MFC).

Новосинтетисани комплекси Pt(II) и Pd(II) показују значајан цитотоксички ефекат код неких врста солидног тумора хуманог и мишјег порекла. Претпоставља се да је цитотоксичка активност испитиваних комплекса заснована на њиховој способности да зауставе ћелијски циклус и последично индукују смрт туморске ћелије. Поред туморицидне активности, очекује се да тестирани комплекси Pt(II) и Pd(II) поседују и антимикуробни потенцијал на неке референтне врсте бактерија и гљивица. Новосинтетисани комплекси Pt(II) и Pd(II) показују значајан антитуморски и антимикуробни ефекат.

3. Предлог коментора

За коменторе докторске дисертације предлажу се проф. др Гордана Радосављевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија и проф. др Јелена Пантић, ванредни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија.

Предложени наставници поседују стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњавају услове за ментора докторских дисертација у складу са

стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1. Коментентност ментора

Проф. др Гордана Радосављевић

Радови у вези са темом докторске дисертације:

1. Benazic S, Besser Silconi Z, Jevtovic A, Jurisevic M, Milovanovic J, Mijajlovic M, Nikolic M, Kanjevac T, Ivan Potočňák, Samořová E, Ratkovic ZR, Radic G, Milovanovic M, Pantic J, Arsenijevic N, **Radosavljevic GD**. The Zn(S-pr-thiosal)2 complex attenuates murine breast cancer growth by inducing apoptosis and G1/S cell cycle arrest. *Future Med Chem* 2020; 12(10): 897–914
2. Jurišević M, Jagić N, Gajović N, Arsenijević A, Jovanović M, Milovanović M, Pantić J, Jovanović I, Tibor S, **Radosavljević GD**, Arsenijević N. O,O'-diethyl-(S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-(3-cyclohexyl)propanoate dihydrochloride enhances influx of effective NK and NKT cells in murine breast cancer. *Vojnosanit Pregl* 2020; 77(7): 715–723.
3. Besser Silconi Z, Benazic S, Milovanovic J, Jurisevic M, Djordjevic D, Nikolic M, Mijajlovic M, Ratkovic Z, Radić G, Radisavljevic S, Petrovic B, **Radosavljevic G**, Milovanovic M, Arsenijevic N. DNA binding and antitumor activities of platinum(IV) and zinc(II) complexes with some S-alkyl derivatives of thiosalicylic acid. *Transit Metal Chem* 2018; 43(8):719–729
4. Jurisevic M, Arsenijevic A, Pantic J, Gajovic N, Milovanovic J, Milovanovic M, Poljarevic J, Tibor S, Vojvodic D, **Radosavljevic GD**, Arsenijevic N. The organic ester O,O'-diethyl-(S,S)-ethylenediamine-N,N'-di- 2-(3-cyclohexyl)propanoate dihydrochloride attenuates murine breast cancer growth and metastasis. *Oncotarget* 2018; 9(46): 28195-28212.
5. Jevtovic A, Pantic J, Jovanovic I, Milovanovic M, Stanojevic I, Vojvodic D, Arsenijevic N, Lukic ML, **Radosavljevic GD**. Interleukin-33 pretreatment promotes metastatic growth of murine melanoma by reducing the cytotoxic capacity of CD8+ T cells and enhancing regulatory T cells. *Cancer Immunol Immunother* 2020;69(8):1461-1475.
6. Gajovic N, Jurisevic M, Pantic J, **Radosavljevic G**, Arsenijevic N, Lukic ML, Jovanovic I. Attenuation of NK cells facilitates mammary tumor growth in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Endocr Relat Cancer* 2018; 25(4):493-507.
7. Jovanovic I, Pejnovic N, **Radosavljevic G**, Pantic J, Milovanovic M, Arsenijevic N, Lukic M. Interleukin-33/ST2 Axis Promotes Breast Cancer Growth and Metastases by Facilitating Intratumoural Accumulation of Immunosuppressive and Innate Lymphoid Cells. *Int J Cancer* 2014; 134(7):1669-16682.
8. Jovanovic I, Pejnovic N, **Radosavljevic G**, Arsenijevic N, Lukic ML. IL-33/ST2 Axis in Innate and Acquired Immunity to Tumors. *OncoImmunology* 2012; 1(2):229-231.
9. **Radosavljevic G**, Jovanovic I, Majstorovic M, Mitrovic M, Juranic Lisnic V, Arsenijevic N, Jonjic S, Lukic ML. Deletion of Galectin-3 in the host attenuates metastasis of murine melanoma by modulating tumor adhesion and NK cell activity. *Clin Exp Metastasis* 2011; 28(5):451-462.
10. Jovanovic I, **Radosavljevic G**, Mitrovic M, Lisnic Juranic V, McKenzie ANJ, Arsenijevic N, Jonjic S. and Lukic ML. ST2 Deletion Enhances Innate and Acquired Immunity to Murine Mammary Carcinoma. *Eur J Immunol* 2011; 41(7):1902-1912.

Проф. др Јелена Пантић

Радови у вези са темом докторске дисертације:

1. Jevtovic A, **Pantic J**, Jovanovic I, Milovanovic M, Stanojevic I, Vojvodic D, Arsenijevic N, Lukic ML, Radosavljevic GD. Interleukin-33 pretreatment promotes metastatic growth of murine melanoma by reducing the cytotoxic capacity of CD8+ T cells and enhancing regulatory T cells. *Cancer Immunol Immunother*. 2020; 69(8):1461-1475.
2. Benazic S, Silconi ZB, Jevtovic A, Jurisevic M, Milovanovic J, Mijajlovic M, Nikolic M, Kanjevac T, Potočňák I, Samořová E, Ratkovic ZR, Radic G, Milovanovic M, **Pantic J**, Arsenijevic N, Radosavljevic GD. The Zn(S-pr-thiosal)2 complex attenuates murine breast cancer growth by inducing apoptosis and G1/S cell cycle arrest. *Future Med Chem*. 2020; 12(10):897-914.
3. Jurišević M, Jagić N, Gajović N, Arsenijević A, Jovanović M, Milovanović M, **Pantić J**, Jovanović I, Tibor S, Radosavljević GD, Arsenijević N. O,O'-diethyl-(S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-(3-cyclohexyl)propanoate dihydrochloride enhances influx of effective NK and NKT cells in murine breast cancer. *Vojnosanit Pregl* 2020; 77(7): 715–723.
4. **Pantic J**, Guilhaudis L, Musale V, Attoub S, Lukic ML, Mechkarska M, Conlon JM. Immunomodulatory, insulinotropic, and cytotoxic activities of phylloseptins and plasticin-TR from the Trinidadian leaf frog *Phyllomedusa trinitatis*. *J Pept Sci*. 2019; 25(4):e3153.
5. Jurisevic M, Arsenijevic A, **Pantic J**, Gajovic N, Milovanovic J, Milovanovic M, Poljarevic J, Sabo T, Vojvodic D, Radosavljevic GD, Arsenijevic N. The organic ester O,O'-diethyl-(S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-(3-cyclohexyl)propanoate dihydrochloride attenuates murine breast cancer growth and metastasis. *Oncotarget*. 2018; 9(46):28195-28212.
6. Gajovic N, Jurisevic M, **Pantic J**, Radosavljevic G, Arsenijevic N, Lukic ML, Jovanovic I. Attenuation of NK cells facilitates mammary tumor growth in streptozotocin-induced diabetes in mice. *Endocr Relat Cancer*. 2018; 25(4):493-507.
7. **Pantic JM**, Jovanovic IP, Radosavljevic GD, Arsenijevic NN, Conlon JM, Lukic ML. The Potential of Frog Skin-Derived Peptides for Development into Therapeutically-Valuable Immunomodulatory Agents. *Molecules*. 2017; 22(12):2071.
8. **Pantic JM**, Jovanovic IP, Radosavljevic GD, Gajovic NM, Arsenijevic NN, Conlon JM, Lukic ML. The frog skin host-defense peptide frenatin 2.1S enhances recruitment, activation and tumoricidal capacity of NK cells. *Peptides*. 2017; 93:44-50.
9. Mechkarska M, Attoub S, Sulaiman S, **Pantic J**, Lukic ML, Conlon JM. Anti-cancer, immunoregulatory, and antimicrobial activities of the frog skin host-defense peptides pseudhymenochirin-1Pb and pseudhymenochirin-2Pa. *Regul Pept*. 2014; 194-195:69-76.
10. Jovanovic IP, Pejnovic NN, Radosavljevic GD, **Pantic JM**, Milovanovic MZ, Arsenijevic NN, Lukic ML. Interleukin-33/ST2 axis promotes breast cancer growth and metastases by facilitating intratumoral accumulation of immunosuppressive and innate lymphoid cells. *Int J Cancer* 2014; 134(7):1669-82.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Имунологија, инфекција и инфламација.

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Небојша Арсенијевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија; Онкологија, председник
2. **Проф. др Марија Живковић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Органска хемија, члан
3. **Доц. др Божидар Чобелић**, доцент Хемијског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Општа и неорганска хемија, члан
4. **Доц. др Александар Арсенијевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Онкологија, члан
5. **НС Бојана Симић Марковић**, научни сарадник Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Онкологија, члан

Закључак и предлог комисије

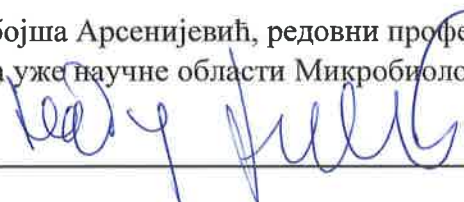
На основу увида у досадашњи научно-истраживачки рад др Сање Зорнић, Комисија закључује да кандидат испуњава све услове да приступи изради докторске дисертације.

Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу које има за циљ да се испита антитуморски и антимикробни ефекат новосинтетисаних комплекса Pt(II) и Pd(II), као и да се утврде потенцијални механизми антитуморске активности.

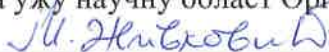
Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др Сање Зорнић под називом "Антитуморска и антимикробна активност новосинтетисаних комплекса платине(II) и паладијума(II)" и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија; Онкологија, председник



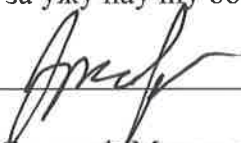
Проф. др Марија Живковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Органска хемија, члан



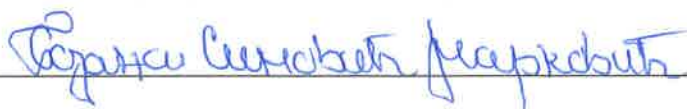
Доц. др Божидар Чобелић, доцент Хемијског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Општа и неорганска хемија, члан



Доц. др Александар Арсенијевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Онкологија, члан



НС Бојана Симовић Марковић, научни сарадник Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Онкологија, члан



У Крагујевцу, _____