

НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

Научно веће Медицинског факултета у Београду на седници одржаној 24.06.2021. године одредило је Комисију за утврђивање испуњености услова за избор у научно звање, у следећем саставу:

1. проф. др Владимир Трајковић, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Београду, председник комисије
2. др Биљана Ристић, научни сарадник, Медицински факултет Универзитета у Београду
3. др Гордана Товиловић-Ковачевић, виши научни сарадник, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ – Институт од националног значаја за Републику Србију

Комисија је разматрала пријаву кандидата др **Данијеле Стевановић** за избор у звање **Истраживач сарадник** за област **Молекуларна медицина** и подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

БИОГРАФСКИ ПОДАЦИ

Данијела (Драгољуб) Стевановић је рођена 14.02.1988. године у Врању где је завршила основну и средњу школу. Медицински факултет Универзитета у Београду уписала је школске 2007/08. године и дипломирала је 30.12.2013. године на тему „Дијабетесна нефропатија у типу 1 дијабетеса“ са просечном оценом у току студија 9,00. Након завршених основних студија обавила је обавезни лекарски стаж и положила стручни испит за доктора медицине 2014. године. Школске 2015/2016. године уписала је специјалистичке академске студије на Медицинском факултету у Београду на студијском програму Имунологија. Специјалистичке академске студије завршила је 14.07.2017. године одбранивши рад под називом „Улога аутофагије у одбрани од инфекција изазваних вирусима и интрацелуларним бактеријама“, под менторством проф. др Владимира Трајковића и са просечном оценом у току студија 9,82.

Прву годину докторских академских студија на Медицинском факултету Универзитета у Београду уписала је школске 2017/18. на модулу Молекуларна медицина, а у звање истраживач приправник у области Молекуларна медицина изабрана је 09.07.2018. године. Од јула 2018. године била је ангажована као истраживач приправник на пројекту Министарства просвете, науке, технике и технолошког развоја под називом „Модулација сигналних путева који контролишу интрацелуларни енергетски баланс у терапији тумора и неуроимуноендокриних поремећаја“ РС којим је руководио проф. др Владимир Трајковић. Такође, од 29.01.2021. године у оквиру специјалног програма истраживања COVID-19 Фонда за науку Републике Србије, ангажована је на пројекту под називом „Улога аутофагије у имунојдисрегулацији проузрокованој SARS-CoV-2 инфекцијом“ којим руководи проф. др Владимир Трајковић. Веће научних области медицинских наука Универзитета у Београду је на седници одржаној 01.06.2021. дало сагласност о прихватању теме докторске дисертације под називом „Молекуларни механизми антитуморског и неуропротективног дејства трехалозе *in vitro*“ и одредило за менторе проф. др Владимира Трајковића и др Љубицу Вучићевић, вишег научног сарадника са Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“.

БИБЛИОГРАФИЈА

M22 Рад у истакнутом међународном часопису (M=5)

1. Milica Kotic, Verica Paunovic, Biljana Ristic, Aleksandar Mirkic, Mihajlo Bosnjak, **Danijela Stevanovic**, Tamara Kravic-Stevovic, Vladimir Trajkovic, Ljubica Harhaji-Trajkovic. 3-Methyladenine prevents energy stress-induced necrotic death of melanoma cells through autophagy-independent mechanisms. *J Pharmacol Sci.* 2021;147: 156-167.

JCR impact factor: **2.835**

Број цитата: 0

M34 Саопштење са међународног скупа штампано у изводу (M=0.5)

1. **Stevanovic D**, Vucicevic L, Misirkic Marjanovic M, Paunovic V, Harhaji-Trajkovic L, Trajkovic V. The neuroprotective effects of trehalose against 6-OHDA-induced oxidative stress in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. Immunology at the confluence of multidisciplinary approaches. 6-8st December 2019, Belgrade, Serbia, Abstract book p. 36.
2. **Stevanovic D**, Vucicevic L, Misirkic Marjanovic M, Paunovic V, Kotic M, Mandic M, Ristic B, Bosnjak M, Janjetovic K, Zogovic N, Tovilovic Kovacevic G, Harhaji-Trajkovic L, Vladimir Trajkovic. The opposite effects of trehalose on 6-hydroxydopamine and 1-methyl-4-phenylpyridinium induced oxidative stress in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. "Redox Biology in the 21st Century: A New Scientific Discipline" 15-18st June, 2021, Belgrade, Serbia, Abstract book p. 94.
3. Kotic M, Paunovic V, Ristic B, Mircic A, Bosnjak M, **Stevanovic D**, Mandic M, Stamenkovic M, Janjetovic K, Vucicevic L, Trajkovic V, Harhaji-Trajkovic L. Synergistic anticancer effect of glycolysis inhibition and oxidative phosphorylation suppression. "Redox Biology in the 21st Century: A New Scientific Discipline" 15-18st June, 2021, Belgrade, Serbia, Abstract book p. 203.
4. Paunovic V, Kotic M, Ristic B, Bosnjak M, **Stevanovic D**, Misirkic Marjanovic M, Mandic M, Mircic A, Trajkovic V, Harhaji Trajkovic L. 3-methyladenine protects melanoma cells against energy stress-induced necrosis by autophagy-independent decrease in oxidative stress and partial involvement of JNK. "Redox Biology in the 21st Century: A New Scientific Discipline" 15-18st June, 2021, Belgrade, Serbia, Abstract book p.221.

АНАЛИЗА РАДОВА

У оквиру досадашњег научно-истраживачког рада кандидаткиња се бавила проучавањем молекуларних механизма смрти туморских ћелија у условима енергетске деплеције, као и испитивањем неуропротективног и антитуморског ефекта природног дисахарида трехалозе.

У групи радова који се баве проучавањем механизма смрти туморских ћелија у условима енергетске деплеције (редни бројеви 1, 3 и 4) испитиван је ефекат 3-метиладенина (ЗМА) на смрт туморских ћелија изазвану смањеном продукцијом енергије услед истовремене инхибиције гликолизе и оксидативне фосфорилације. За индукцију ћелијске смрти коришћени су 2 деоксиглукоза (2DG), аналог глукозе који инхибира гликолизу, и ротенон, митохондријални токсин који инхибира комплекс I респираторног ланца митохондрија. Комбинација доза 2DG и ротенона са највећим синергистичким ефектом одређена је мерењем активности ензима лактат дехидрогеназе (LDH) који се ослобађа из ћелија са нарушеним интегритетом ћелијске мембране, што је послужило као мера цитотоксичности испитиване комбинације. Тест цитотоксичности је урађен на неколико ћелијских линија (ћелије хуманог глиобластома, мишићег меланома, мишићи фибробласти и мезенхимске стем ћелије), а за даље експерименте изабране су ћелије мишићег меланома (B16) које су испољиле највећу сензитивност. За детекцију апоптозе и некрозе коришћено је двоструко бојење ћелија анексином и 7-аминоактиномицином D (7-ADD). Анализа проточном цитофлуориметријом је указала на оштећење ћелијске мембране које је

карактеристично за некрозу, јер је детектовано повећање броја анексин/7-ADD позитивних ћелија. Такође, нису детектоване апоптотичне анексин позитивне/7-ADD негативне ћелије, док је анализа ћелијског циклуса показала да не долази до повећања броја хиподиплоидних апоптотичних ћелија са франгментисаном ДНК. Некротична смрт ћелија меланома третираних комбинацијом 2DG и ротенона потврђена је и електронском микроскопијом, која је указала на јасно оштећење ћелијске мембране. Иако је проточном цитофлуориметријом и имуноблот анализом показана активација каспазе 3, употреба инхибитора апоптозе Q-VD-Orh и Z-VAD-FMK, као и инхибитора некроптозе некростатина није смањила цитотоксичност 2DG и ротенона, што је указало да ћелије у овом третману умиру искључиво некрозом. Комбинација 2DG и ротенона смањила је ниво АТФ и повећала продукцију супероксидних аниона у митохондријама, што је довело до оштећења митохондрија и некрозе ћелија. Даље је испитивано учешће различитих сигналних путева и процеса аутофагије у овом ефекту. Третман комбинацијом 2DG и ротенона није повећао експресију активатор аутофагије беклина-1 и није индуковао аутофагни флуks у ћелијама меланома, упркос активацији АМР-ом активираних протеин киназа и инхибицији mTOR (енгл. Mechanistic target of rapamycin) комплекса 1. Повећање нивоа аутофагије инхибицијом PI3K класе I и Akt сигналног пута, као и генетичка инхибиција аутофагије, нису смањиле цитотоксичност комбинације 2DG и ротенона. У овом раду је показано и протективно дејство ЗМА у ћелијама меланома третираним комбинацијом 2-DG и ротенона. ЗМА је смањило активацију JNK (енгл. c-Jun N-terminal kinase) у третираним ћелијама, док су фармаколошка и генетичка супресија JNK, као и употреба антиоксиданса имитирале дејство ЗМА. Овај рад је први пут показао да ЗМА независно од процеса аутофагије повећава преживљавање ћелија меланома тако што смањује активацију JNK и тиме смањује оксидативни стрес, спречава оштећење митохондрија и повећава ниво АТФ у ћелији.

У оквиру истраживања чији се резултати налазе у саопшењима 1 и 2, кандидаткиња се бавила испитивањем неуропротективног дејства трехалозе *in vitro* моделу Паркинсонове болести. За испитивање молекуларног механизма неуропротекције, оксидативног стреса, као и сигналних путева који регулишу оксидативни стрес и ћелијску смрт, користила је неуробластомске SH-SY5Y ћелије инкубирани са два различита неуротоксина – 6-хидроксидопамином (6-OHDA) и 1-метил-4-фенил пиридинијумом (MPP⁺). Резултати овог истраживања су показали да је третман трехалозом смањило стварање реактивних облика кисеоника, посебно супероксид анион радикала и тиме смањило апоптотску смрт SH-SY5Y ћелија индуковану неуротоксином 6-OHDA. Насупрот овим резултатима, у ћелијама третираним неуротоксином MPP⁺, третман трехалозом је повећао стварање супероксид анион радикала, као и број апоптотичних ћелија. Такође, имуноблот анализом је показано да трехалоза значајно смањује активацију p38 и JNK само у ћелијама третираним неуротоксином 6-OHDA. Ови резултати указују на то да трехалоза има различите ефекте на оксидативни стрес изазван различитим неуротоксинима. Откривање молекуларних механизма којим трехалоза утиче на оксидативни стрес различите етиологије битно је за даљи развој трехалозе као неуропротективног агенса, а може и да допринесе дефинисању нових циљних молекула чијом би се модулацијом постигла заштита допаминергичких неурона од оксидативног оштећења у Паркинсоновој болести.

ЦИТИРАНОСТ

Према подацима индексне базе SCOPUS кандидат нема цитиране радове.

ТАБЕЛА СА РЕЗУЛТАТИМА НАУЧНО-ИСТРАЖИВАЧКОГ РАДА

Ознака групе резултата	Врста резултата (М)	Број резултата	Вредност резултата
M20	M22 (5)	1	5
M30	M34 (0.5)	4	2
Укупно		5	7

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

На основу прегледа досадашњег научно-истраживачког рада, објављених резултата у истакнутом међународном часопису, као и саопштења на међународним скуповима, може се закључити да кандидаткиња др **Данијела Стевановић** у потпуности задовољава услове за избор у звање **истраживач сарадник**. Истраживачка делатност показује да је кандидаткиња овладала методологијом и истраживачким техникама које се користе у савременим истраживањима, као и да је способна да самостално и критички приступа истраживању, при томе показујући заинтересованост и смисао за тимски рад.

На основу анализе поднетог материјала и увида у приложену документацију кандидаткиње др **Данијеле Стевановић**, Комисија је закључила да кандидаткиња испуњава услове за стицање звања **истраживач сарадник** прописане законом и предлаже Научном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да кандидаткињу изабере у звање **истраживач сарадник за област Молекуларна медицина**.

У Београду, 12.07.2021.

Председник комисије:

Проф. др Владимир Трајковић
Редовни професор
Медицински факултет Универзитета у Београду

Чланови комисије:

др Биљана Ристић,
научни сарадник,
Медицински Факултет Универзитета у Београду

др Гордана Товиловић-Ковачевић
Виши научни сарадник,

Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“
- Институт од националног значаја за Републику Србију
Универзитета у Београду