

НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

“УТИЦАЈ ЕКСТРАЦЕЛУЛАРНИХ ВЕЗИКУЛА ПОРЕКЛОМ ИЗ ТРОФОБЛАСТНИХ ЋЕЛИЈА НА МОДУЛАЦИЈУ АПОПТОЗЕ У КУЛТУРИ ЋЕЛИЈА КАРЦИНОМА ЈАЈНИКА ТРЕТИРАНИХ ЦИСПЛАТИНОМ”

Кандидат: Јована Вуковић

Одлуком Наставно научног већа Медицинског факултета у Београду од 08. 06. 2026. године, под бројем: 7/XVII-2/1-JB именована је Комисија за оцenu научне заснованости теме докторске дисертације “Утицај екстрацелуларних везикула пореклом из трофобластних ћелија на модулацију апоптозе у култури ћелија карцинома јајника третираних цисплатином” кандидата Јоване Вуковић, у саставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Весна Ћорић	Ванредни професор	Медицинска и клиничка биохемија	МФУБ
др Милица Јовановић Кривокућа	Научни саветник	Биологија репродукције	ИНЕП
др Данило Војводић	Редовни професор	Имунологија	МФ ВМА

Име и презиме ментора	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Андреа Пирковић	Виши научни сарадник	Биологија	ИНЕП
др Ђурђа Јеротић	Научни сарадник	Медицинска и клиничка биохемија	МФУБ

На основу анализе приложене документације у вези са темом предложене докторске дисертације, након разговора са кандидатом, а према критеријумима за процену научне заснованости теме докторске дисертације, чланови Комисије подносе Наставно научно већу Медицинског факултета у Београду следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Подаци о кандидату:

Јована Вуковић је рођена 10.05.1996. Биолошки факултет Универзитета у Београду уписала је школске 2015/16. године, студијски програм Биологија. Основне академске студије завршила је 12. јула 2019. године са просечном оценом 9,50. Мастер академске студије је завршила је 25. септембра 2020. године, на студијском програму Молекуларна биологија и физиологија, са просечном оценом 10. Докторске академске студије, модул Биологија тумора и оксидативна обољења, на Медицинском факултету Универзитета у Београду, уписала је школске 2023/24. године. У Институту за примену нуклеарне енергије запослена је од априла 2024. године, на Одељењу за биологију репродукције. Звање истраживача приправника стекла је на Биолошком факултету, 15.12.2020, док је у Институту за примену нуклеарне енергије звање стручног сарадник стекла 14.03.2024. Члан је Српског друштва за молекуларну биологију, Биохемијског друштва Србије, као и Европског друштва за истраживање слободних радикала.

Б. Списак публикованих радова кандидата објављених у целини

1. Krstić S, Bekić S, Živanović N, Pirković A, **Vuković J**, Bauer R, et al. Bioactivities of *Alchemilla alpina* L. extract on women's reproductive and metabolic health: antioxidant, enzyme inhibitory, receptor modulatory properties and potential cytotoxic effects. *Int J Mol Sci.* 2026;27(7):3025. <https://doi.org/10.3390/ijms27073025>
2. Medenica S, Abazovic D, **Vukovic J**, Vojinovic T, Tomovic F, Defeudis G, et al. Regenerative medicine approaches for treating diabetes: current advances and future directions. *J Diabetes Complications.* 2026;40(1):109232.
3. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2025.109232>
4. Bogdanović L, **Vuković J**, Bogdanović J, Babić I, Micić D, Medenica S, et al. Stem cells in action: addressing ischemia-reperfusion injury in acute kidney injury. *Mol Biol Rep.* 2025;52:994. <https://doi.org/10.1007/s11033-025-11111-z>
5. Lukac D, Vojinovic T, Dutta P, Lukac H, Medenica S, Dutta A, Delevic, M., Hot, S.A., Abazovic, D., **Vukovic, J.** & Miljkovic, B. Restricted antibiotic use in the Clinical Center of Montenegro. *Indian J Pharmacol.* 2025;57(5):338-43. http://doi.org/10.4103/ijp.ijp_947_24
6. **Vukovic J**, Abazovic D, Vucetic D, Medenica S. CAR-engineered T cell therapy as an emerging strategy for treating autoimmune diseases. *Front Med (Lausanne).* 2024;11:1447147. <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1447147>
7. Ljubić A, Bozanovic T, Piperski V, Đurić E, Begovic A, Sikiraš M, Perovic, A., **Vukovic, J.** & Abazović, D. Biological therapies in the prevention of maternal mortality. *J Perinat Med.* 2023;51(2):253-60. <https://doi.org/10.1515/jpm-2022-0403>
8. Djuran B, Tatic Z, Perunovic N, Pejicic N, **Vukovic J**, Petkovic-Curcin A, et al. Underdiagnosis in background of emerging public health challenges related to peri-implant diseases: an interventional split-mouth study. *Int J Environ Res Public Health.* 2023;20(1):477. <https://doi.org/10.3390/ijerph20010477>
9. Medenica S, Abazovic D, Ljubić A, **Vukovic J**, Begovic A, Cucinella G, et al. The role of cell and gene therapies in the treatment of infertility in patients with thyroid autoimmunity. *Int J Endocrinol.* 2022; 4842316. <https://doi.org/10.1155/2022/4842316>

Ц. ОБРАЗЛОЖЕЊЕ ТЕМЕ:

1. НАУЧНА ОБЛАСТ:

МЕДИЦИНА (ужа научна област: Биологија тумора и оксидативна обољења)

2. ПРЕДМЕТ РАДА:

Предмет рада ће бити испитивање утицаја трофобластних екстрацелуларних везикула (тЕВ) на осетљивост ћелија карцинома јајника A2780 на третман цисплатином, као и анализа њиховог утицаја на вијабилност, апоптозу и експресију гена и протеина укључених у регулацију апоптотских сигналних путева у третираним ћелијама. Истраживањем ће се такође испитати потенцијална улога микроРНК присутних у тЕВ и утврдити њихов потенцијални допринос у регулацији молекуларних механизма одговорних за преживљавање ћелија карцинома јајника и развој осетљивости на терапију цисплатином.

3. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА:

1. Испитати укупни апоптотски одговор A2780 ћелија карцинома јајника применом проточне цитометрије, након третмана трофобластним екстрацелуларним везикулама, цисплатином и њиховом комбинацијом.
2. Испитати ниво експресије информационих РНК повезаних са апоптозом (*BAX* и *BCL2*) и маркерима инвазивности ћелија (*ITGB1*, *ITGA5*, *TGFβ*, *MMP2*, *MMP9*) применом *RT-qPCR* методе након третмана трофобластним екстрацелуларним везикулама, цисплатином и њиховом комбинацијом.
3. Испитати ниво експресије 35 протеина повезаних са апоптозом применом *Proteome Array* методе, након третмана трофобластним екстрацелуларним везикулама, цисплатином и њиховом комбинацијом.
4. Идентификовати микроРНК из трофобластних екстрацелуларних везикула које утичу на експресију одабраних анти-апоптотских гена путем *in silico* приступа.
5. Испитати утицај третмана трофобластних екстрацелуларних везикула на ниво одабраних микроРНК у A2780 ћелијама, како би се утврдило да ли уочене промене указују на пренос микроРНК из трофобластних екстрацелуларних везикула у ћелије.

4. ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА:

Третман A2780 ћелија оваријалног карцинома у култури са екстрацелуларним везикулама пореклом из трофобласта модулише осетљивост ћелија карцинома јајника на цисплатину, при чему се потенцијални синергистички ефекат остварује кроз промене у апоптотским путевима и експресији маркера ћелијске инвазивности.

5. МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА:

Истраживање ће бити дизајнирано као *in vitro* експериментална студија са контролисаним третманима, при чему ће сваки експеримент бити изведен у најмање три независна биолошка понављања. У оквиру планираног истраживања користиће се комерцијално доступне ћелијске линије хуманог порекла. У истраживању ће бити коришћена ћелијска линија A2780, као модел карцинома јајника, која ће се гајити у комплетном *DMEM/F12* медијуму са 10% *FBS* и 1% антибиотика/антимикотика, у инкубатору на 37°C и 5% CO₂. Екстрацелуларне везикуле трофобластног порекла биће изоловане методом диференцијалног ултрацентрифугирања из кондиционираног медијума без серума ћелијске линије *HTR-8/Svneo* (имортилизоване линије хуманог трофобласта пореклом из плаценте првог триместра трудноће), која ће претходно бити култивисана у *RPMI 1640* медијуму са 10% *FBS* и 1% антибиотика/антимикотика, у

стандардним условима инкубације на 37°C и 5% CO₂. Карактеризација изолованих везикула обухватиће одређивање величине и концентрације методом анализе праћења наночестица (енг. *Nanoparticle Tracking Analysis, NTA*), детекцију специфичних маркера екстрацелуларних везикула (CD9, CD63 и CD81) имунообележавањем, као и одређивање укупне концентрације протеина применом енг. *Bicinchoninic Acid Protein Assay* методе. Морфолошка и ултраструктурна анализа везикула биће изведена применом трансмисионе електронске микроскопије (*TEM*). Након одређивања оптималне концентрације тЕВ за даље експерименте, приступиће се анализама биолошких ефеката третмана тЕВ у ћелијама A2780, као модела карцинома јајника. За процену утицаја тЕВ на вијабилност ћелија A2780 након 24 и 48 часова третмана различитим концентрацијама везикула биће примењен *MTT* тест.. Након анализе резултата остварених цитотоксичних ефеката, одабраће се оптимална концентрација тЕВ којом ће ћелије бити третиране. За даље анализе, формиране су четири експерименталне групе: нетретиране контролне ћелије, ћелије третиране само са тЕВ, ћелије третиране искључиво цисплатином и ћелије претходно кондициониране тЕВ током 24 часа, након чега ће бити изложене третману цисплатином. За анализу апоптозе, ћелије A2780 ће бити гајене у плочама са 24 бунара и третиране према наведеном експерименталном протоколу након чега ће бити сакупљене и обојене *Annexin V-FITC* и пропидијум-јодидом. Проценат апоптотских ћелија биће анализиран применом *BD® LSR II* проточног цитофлуориметра, а добијени резултати биће обрађени у програму *FlowJo v10.10*. У циљу испитивања молекуларних механизма апоптозе, биће анализирана експресија 35 протеина укључених у апоптотске сигналне путеве применом комерцијалног *Proteome Profiler™ Human Apoptosis Array* система (*R&D Systems, UK*). Након дензитометријске анализе, резултати ће бити приказани у облику *heat map* дијаграма, што ће омогућити јаснији приказ промена у експресији испитиваних протеина. За анализе генске експресије, укупна РНК биће изолована помоћу *TriZol* реагенса, након чега ће бити конвертована у цДНК и анализирана методом квантитативног PCR-а (енг. *quantitative PCR, qPCR*) на апарату *7500 Real-Time PCR System* применом *SYBR Green Master Mix-a* и специфичних прајмера. Анализираће се експресија гена *BAX, BCL2, ITGA5, ITGB1, TGFβ, MMP2* и *MMP9*. За нормализацију резултата користиће се β-актин као ендегени контролни ген, док ће се релативна експресија одређивати применом ΔΔCt методе. *In silico* анализа микроРНК обухватиће биоинформатичку анализу којом ће се идентификовати микроРНК потенцијално присутне у тЕВ, а које могу учествовати у регулацији осетљивости ћелија карцинома јајника A2780 на терапију цисплатином. Подаци о профилу некодирајућих РНК из тЕВ биће преузети из GEO базе података (GSE182717), након чега ће бити издвојене најзаступљеније микроРНК. Потенцијалне циљне интеракције са одабраним антиапоптотским генима биће испитане коришћењем базе *miRTargetLink 2.0*, која интегрише податке из база *miRTarBase, miRDB* и *mirDIP*. Добијени резултати биће упоређени са доступним подацима о експресији микроРНК у ћелијској линији A2780, ради идентификације кандидата са потенцијалном улогом у регулацији преживљавања ћелија и одговора на терапију цисплатином. Одабране микроРНК биће укључене у конструкцију мрежа интеракције микроРНК– информационе РНК применом алата *miRNet 2.0*, а најрелевантнији кандидати биће изабрани за експерименталну валидацију у ћелијској линији A2780. Нормалност расподеле података биће процењена применом *Shapiro–Wilk* теста. Разлике између више експерименталних група биће анализирани једнофакторском анализом варијансе (*ANOVA*), уз *Tukey post hoc* тест, односно *Kruskal–Wallis* тестом у случају да подаци не прате нормалну расподелу. Вредности $p < 0,05$ сматраће се статистички значајним. Статистичке анализе биће спроведене у програму *GraphPad Prism 8*, а резултати ће бити приказани у облику табела и графикана.

6. ОЧЕКИВАНИ РЕЗУЛТАТИ:

С обзиром на досадашња сазнања о улози тЕВ у регулацији међућелијске комуникације и процеса апоптозе, очекује се да ће прекондиционирање ћелија карцинома јајника А2780 тЕВ довести до повећања њихове осетљивости на третман цисплатином, што ће се испољити у виду смањене вијабилности ћелија и повећаном учесталости апоптозе у односу на нетретиране ћелије. Очекује се и да ће третман тЕВ довести до промена у експресији гена и протеина укључених у регулацију апоптотских сигналних путева, у правцу појачане проапоптотске и смањене антиапоптотске активности. Такође, очекује се да ће одабране микроРНК присутне у тЕВ бити повезане са регулацијом гена одговорних за преживљавање ћелија и одговором ћелија на третман цисплатином, чиме би се потврдила њихова потенцијална улога у сензибилизацији ћелија карцинома јајника на терапију.

7. НАУЧНИ ДОПРИНОС:

Упркос значајном напретку у разумевању механизма резистенције на цисплатину, и даље постоји потреба за развојем нових стратегија које би повећале терапијску осетљивост и унапредице исход лечења пацијенткиња са карциномом јајника. Иако су екстрацелуларне везикуле препознате као важни посредници међућелијске комуникације, њихова улога у модулацији осетљивости ћелија карцинома јајника на цисплатину није у потпуности разјашњена. Имајући у виду да су досадашња истраживања показала да екстрацелуларне везикуле пореклом из плаценте могу регулисати апоптозу ћелија карцинома јајника, ово истраживање ће по први пут испитати потенцијал прекондиционирања ћелија карцинома јајника тЕВ и утврдити њихов утицај на осетљивост ћелија на третман цисплатином, као и молекуларне механизме који посредују овом ефекту. Посебан акценат биће стављен на анализу микроРНК које тЕВ преносе и њихову улогу у регулацији апоптотских сигналних путева и одговора на третман цисплатином. Добијени резултати могли би значајно допринети бољем разумевању интеракција између тЕВ и туморских ћелија, идентификацији нових терапијских циљева и у будућности отворити могућност за развој нових персонализованих терапијских приступа.

8. СПИСАК КОРИШЋЕНЕ ЛИТЕРАТУРЕ:

1. Yang L, Xie HJ, Li YY, Wang X, Liu XX, Mai J. Molecular mechanisms of platinum-based chemotherapy resistance in ovarian cancer (Review). *Oncol Rep*. 2022 Apr;47(4):82.
2. Ortiz M, Wabel E, Mitchell K, Horibata S. Mechanisms of chemotherapy resistance in ovarian cancer. *Cancer Drug Resist* [Internet]. 2022 Apr; 5(2):304–316.
3. Piechowski J. Trophoblastic-like transdifferentiation: A key to oncogenesis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016 May;101:1–11.
4. Ferretti C, Bruni L, Dangles-Marie V, Pecking AP, Bellet D. Molecular circuits shared by placental and cancer cells, and their implications in the proliferative, invasive and migratory capacities of trophoblasts. *Hum Reprod Update*. 2006 Nov 29;13(2):121–41.
5. Quesenberry PJ, Aliotta JM. Cellular phenotype switching and microvesicles. *Adv Drug Deliv Rev*. 2010 Sept;62(12):1141–8.
6. Kumar MA, Baba SK, Sadida HQ, Marzooqi SAI, Jerobin J, Altemani FH, et al. Extracellular vesicles as tools and targets in therapy for diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2024 Feb 5;9(1):27.
7. Nakahara A, Nair S, Ormazabal V, Elfeky O, Garvey CE, Longo S, et al. Circulating Placental Extracellular Vesicles and Their Potential Roles During Pregnancy. *Ochsner J*. 2020;20(4):439–45.
8. Toufakis V, Katuwal S, Pukkala E, Tapanainen JS. Impact of parity on the incidence of ovarian cancer subtypes: a population-based case–control study. *Acta Oncol*. 2021 July 3;60(7):850–5.
9. Chen Q, Rutten V, Cheng WT, Tong M, Wei J, Stone P, et al. Phagocytosis of Extracellular Vesicles Extruded From the Placenta by Ovarian Cancer Cells Inhibits Growth of the Cancer Cells. *Int J Gynecol Cancer*. 2018 Mar;28(3):545–52.
10. Sarker S, Scholz-Romero K, Perez A, Illanes SE, Mitchell MD, Rice GE, et al. Placenta-derived exosomes continuously increase in maternal circulation over the first trimester of pregnancy. *J Transl Med*. 2014 Dec;12(1):204.
11. Chen X, Tijono S, Tsai B, Chamley LW, Ching LM, Chen Q. A pilot *in vivo* study: potential ovarian cancer therapeutic by placental extracellular vesicles. *Biosci Rep*. 2023 Aug 31;43(8):BSR20230307.
12. Sun X, Chamley LW, Morgan T, Tijono S, Tsai B, Terblanche L, et al. Placenta-derived trophoblast extracellular vesicles promote CD169+ macrophage migration and suppress ovarian tumour growth. *J Transl Med*. 2025 Nov 17;23(1):1295.
13. Pillay P, Moodley K, Vatish M, Moodley J. Exosomal MicroRNAs in Pregnancy Provides Insight into a Possible Cure for Cancer. *Int J Mol Sci*. 2020 July 29;21(15):5384.
14. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta$ CT Method. *Methods*. 2001 Dec;25(4):402–8.

Д. ЗАКЉУЧАК

На основу анализе приложене документације, чланови комисије сматрају да је предложена тема докторске дисертације "УТИЦАЈ ЕКСТРАЦЕЛУЛАРНИХ ВЕЗИКУЛА ПОРЕКЛОМ ИЗ ТРОФОБЛАСТНИХ ЋЕЛИЈА НА МОДУЛАЦИЈУ АПОПТОЗЕ У КУЛТУРИ ЋЕЛИЈА КАРЦИНОМА ЈАЈНИКА ТРЕТИРАНИХ ЦИСПЛАТИНОМ" кандидата Јоване Вуковић значајна и актуелна и да у потпуности испуњава услове за оригиналан научни допринос у истраживањима која се односе на расветљавање молекуларних механизма путем којих екстрацелуларне везикуле пореклом из трофобласта утичу на модулацију осетљивости ћелија карцинома јајника на терапију цисплатином. Предложено истраживање ће допринети бољем разумевању потенцијалног синергистичког ефекта овог третмана кроз промене у апоптотским путевима и експресији маркера ћелијске инвазивности. На тај начин би ово истраживање пружило значајан допринос фундаменталном знању о интеракцијама између екстрацелуларних везикула пореклом из трофобласта и ћелија карцинома јајника, а у будућности би могло отворити могућност за развој нових персонализованих терапијских приступа.

Досадашњи стручни и научни рад кандидата Јоване Вуковић, али и ментора 1, ВНС др Андрее Пирковић и ментора 2, Н. Сар. др Ђурђе Јеротић, као и актуелност предложене теме, представљају реалну основу да ће истраживање бити извршено компетентно и на савремен начин.

Стога, на основу целокупне анализе приложеног материјала, Комисија једногласно закључује да су, поред законских, испуњени и сви остали формални услови и на основу тога предлаже Научном већу Медицинског факултета да кандидату Јовани Вуковић одобри израду докторске дисертације са предложеном темом.

Комисија:

Београд, 07. 07. 2026. године

1. Проф. др Весна Ћорић
Медицински факултет Универзитета у Београду

2. Н. Сав. др Милица Јовановић Кривокућа
Институт за примену нуклеарне енергије

3. Проф. др Данило Војводић
Медицински факултет Војномедицинске академије