

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

Предмет: Оцена подобности кандидата и теме докторске дисертације

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета у Крагујевцу од 29.08.2012. године (Одлука: 620/XIV-1) именована је Комисија за оцену подобности кандидата **Иване Стошић** и научне заснованости теме докторске дисертације под називом **"Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам *GSTT1* и *GSTM1* гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацеребралне лезије"** у саставу:

1. Др Оливера Милошевић-Ђорђевић, редовни професор ПМФ-а у Крагујевцу, ужа научна област: Генетика (ментор);
2. Др Слободан Арсенијевић, редовни професор Медицинског факултета у Крагујевцу, ужа научна област: Гинекологија и акушерство;
3. Др Гордана Јоксић, научни саветник Института за нуклеарне науке Винча у Београду, ужа научна област: Генетичка токсикологија.

У складу са одредбама Закона о високом образовању и Статута Природно-математичког факултета у Крагујевцу и на основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Природно-математичког факултета следећи:

ИЗВЕШТАЈ

1. Биографски подаци

Кандидат Ивана Стошић рођена је 16. августа 1983. године у Гњилану, општина Гњилане, Република Србија.

Основну школу и Гимназију "Бора Станковић" у Нишу, завршила је са одличним успехом. Школске 2002/2003. године уписала је Природно-математички факултет у Нишу, одсек Биологија са екологијом, смер дипломирани биолог. Кандидат Ивана Стошић је 2007. године одбранила дипломски рад са оценом 10 и са просечном оценом током студија 9,11 стекла академско звање дипломирани биолог.

Школске 2007/2008. године уписала је Докторске академске студије биологије, смер Генетика, на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу. Кандидат Ивана Стошић је до сада положила све предмете предвиђене студијским програмом докторских студија Биологије са просечном оценом 10.

У организацији Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије и Народне библиотеке Србије Ивана Стошић, као стипендиста Министарства, је 2008. године учествовала на курсу под називом ``Електронски извори информација у науци/претраживање електронских база података за научне публикације – Кобсон``.

У 2009. години кандидат Ивана Стошић је изабрана у истраживачко звање истраживач – приправник за научну област Биологија у Институту за биологију и екологију Природно – математичког факултета у Крагујевцу, а као истраживач на пројекту Министарства, засновала је јануара месеца 2011. године радни однос на Природно-математичком факултету.

Кандидат Ивана Стошић је 2012. године изабрана у истраживачко звање истраживач- сарадник за научну област Биологија у Институту за биологију и екологију Природно – математичког факултета у Крагујевцу.

У току школске 2010/2011. и 2011/2012. године Ивана Стошић је ангажована у извођењу вежби на предмету Цитогенетика на Дипломским академским студијама – Мастер, Модул биологија, на Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета у Крагујевцу.

2. Наслов, предмет и хипотезе докторске дисертације

Предложени наслов докторске дисертације је: **"Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије"**.

Планираним истраживањем у оквиру предложене теме за докторску дисертацију кандидат Ивана Стошић би обавила експерименталну студију са предметом евалуације базалног нивоа оштећења наследног материјала (у форми микронуклеуса - МН) у лимфоцитима периферне крви жена са дијагностикованим интрацервикалним лезијама различитог стадијума: LSIL – low grade squamos intraepithelial lesions, HSIL - high grade squamos intraepithelial lesions и CC – cervical cancer in situ и invasivum. Упоредо би била вршена и процена утицаја полиморфизма GSTT1 и GSTM1 гена на појаву интрацервикалне лезије, као и њихова корелација са различитим стадијумима болести. Истраживање би се заснивало на примени два теста: (1) цитокинезис блок микронуклеус теста на лимфоцитима периферне крви пацијенткиња који се заснива на блокирању цитокинезе лимфоцита и елиминацији хромозомских фрагмената или целих хромозома из једра у виду микронуклеуса и (2) мултиплекс PCR-а за симултано умножавање жељених секвенци ДНК. Обе методе имају широку примену. Цитокинезис блок микронуклеус тест прихваћен је од стране великог броја аутора као једноставна и поуздана метода за утврђивање нивоа хромозомских оштећења у лимфоцитима периферне крви, док је предност мултиплекс PCR методе могућност симултаног умножавање већег броја гена у једној реакцији.

У оквиру ове студије пацијенткињама ће бити узет узорак периферне венске крви из кубиталне вене на надлактици пре оперативног захвата, од којих ће један део бити коришћен за утврђивање спонтане МН фреквенце у лимфоцитима периферне крви и нуклеарног деобног индекса (НДИ), а други део за утврђивање полиморфизма GSTT1 и GSTM1 гена. Сви резултати добијени за пацијенткиње са интрацервикалним лезијама упоређиће се са вредностима добијеним у контролној групи здравих жена.

3. Оцена подобности кандидата

Кандидат Ивана Стошић је испунила је све обавезе предвиђене наставним планом академских докторских студија ПМФ-а Универзитета у Крагујевцу.

Кандидат се бави научно-истраживачким радом у Лабораторији за генетику и Лабораторији за молекуларну биологију Института за биологију и екологију, ПМФ-а у Крагујевцу. У току свог научноистраживачког рада стекла је теоријска знања из области Генетике и овладала техникама из области Цитогенетике и Молекуларне биологије, које са успехом примењује.

У својству најпре стипендисте Министарства а затим истраживача до сада је била ангажована на два пројекта која су финансирана од стране Министарства за просвету и науку:

1. На пројекту: "Студија генетички ризичних фактора у репродуктивној и развојној биологији" – евиденциони број 143008 (2008 - 2011. године)
2. На пројекту: "Преклиничка испитивања биоактивних супстанци" (ПИБАС) - евиденциони број 41010 (2011-2014)

У току научно – истраживачког рада кандидат Ивана Стошић је као коаутор објавила 3 публикације у часописима са SCI листе и то један рад у **M22** категорији, два рада у **M23** категорији, као и 3 саопштења на конгресу међународног значаја из категорије **M34**.

Научни радови објављени у међународним часописима (M22)

О. Milošević-Djordjević, ***I. Stošić***, D.Grujičić, D. Banković, S. Arsenijević: Cervical precancerous lesions - chromosomal instability in peripheral blood lymphocytes in relation to lesion stage, age and smoking habits. *Acta Obstet Gyn Scan*, 2011, 90: 1082–1087.

IF₂₀₁₁ = 1.771

Научни радови објављени у међународним часописима (M23)

О. Đorđević-Milošević, ***I. Stošić***, M. Vučković, D. Grujičić, D. Marinković: Baseline and therapy-induced chromosome damages in peripheral blood lymphocytes of breast cancer patients assessed by the micronucleus assay. *J BUON*, 2011, 16, 437-443

IF₂₀₁₁ = 0.607

D. Grujičić, I. Stošić, O. Đorđević-Milošević: The antibiotic erythromycin did not affect micronucleus frequency in human PHA-stimulated lymphocytes. *Arch Biol Sci*, 2009, 61, 179-185.

IF₂₀₀₉= 0.238

Саопштења на међународним научним скуповима (M34)

I. Stošić, D. Grujičić, S. Arsenijević, D. Marinković, O. Milošević Đorđević: High micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of untreated women with cervical lesions. II Symposium of Population and Evolutionary Genetics PEG2012, Belgrade, 2012, Book of Abstracts, pp 09.

I. Stošić, B. Ljujić, D. Grujičić, D. Marinković, O. Milošević Đorđević: Glutathione S transferase (GSTT1 and GSTM1) polymorphism in women from central Serbia” II Symposium of Population and Evolutionary Genetics PEG2012, Belgrade, 2012, Book of Abstracts, pp 10.

D. Grujičić, O. Milošević Đorđević, I. Stošić, S. Arsenijević, D. Marinković: Evaluation of genotoxic effect of tocolytic ritodrine, antiarrhythmic verapamil and antibiotic erythromycin on the micronuclei frequency in human peripheral blood lymphocytes. IV Congress of the Serbian Genetic Society, Tara, 2009, Book of Abstract, pp 58.

4. Преглед стања у подручју истраживања

У свету са око 7,6 милиона смртних случајева у 2008. години канцер представља велики глобални проблем (Jemal и сар., 2011). У науци постоји велико интересовање да се пронађу релевантни биомаркери ризика за развој као и за дијагнозу канцера. Познато је да хромозомска нестабилност може бити један од примарних догађаја у малигној трансформацији. Бројна цитогенетичка истраживања показала су да је код особа са дијагностикованим канцером постоји повећана хромозомска нестабилност и у лимфоцитима периферне крви. Од великог броја маркера за праћење хромозомске нестабилности у лимфоцитима периферне крви многи аутори сматрају да је праћење фреквенце МН у лимфоцитима ефикасан за анализу хромозомске нестабилности. Микронуклеуси су мала, додатна једра у цитоплазми која су јасно одвојена од главног једра, а настају као последица структурних аберација хромозома или поремећене функције деобног вретена. Лимфоцити су ћелије које дуго живе и циркулацијом кроз различите органе прикупљају ДНК оштећења. Имајући ово у виду ниво хромозомских оштећења у лимфоцитима се може сматрати поузданим биомаркером стања организма.

Поред егзогених фактора, одређену улогу у карциногенези може имати и генетска склоност (или предиспозиција) одређене особе. Различита склоност особа може се приписати полиморфизму у генима који учествују у ћелијском метаболизму детоксификацији ћелије. У последње време ензими друге фазе детоксификације, пре свега GST (eng. glutathione S-transferase) фамилија постаје предмет истраживања у многим генетичким студијама. За сада се зна да су GSTT1 и GSTM1 гени полиморфни и да нулти генотип резултује недостатком функционално активног ензима. Такође, познато је да постоји разлике у дистрибуцији полиморфизма GSTT1 и GSTM1 гена између популација.

5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

Значај резултата ове тезе огледа се у њеном потенцијалу да се сагледа ниво хромозомских оштећења у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња са дијагностикованим интрацервикалним лезијама као и сагледавању везе између генотипа и клиничке слике. Због свега наведеног добијени резултати ове докторске дисертације били би од изузетног научног значаја у области хумане генетике.

- Основни циљ ове тезе је утврђивање нивоа базалних оштећења у лимфоцитима периферне крви жена са дијагностикованим интрацервикалним лезијама грлића материце и здравих контролних жена применом микронуклеус теста;
- Циљ ове студије је и процењивање утицаја полиморфизма два гена из GST фамилије (GSTT1 и GSTM1) у развоју интрацервикалних лезија;
- Један од циљева је утврђивање постојања корелације између нивоа базалних оштећења у лимфоцитима периферне крви и генског профила код испитане популације.

6. Веза са досадашњим истраживањима

Велики број студија указује да је МН тест врло ефикасан за евалуацију нивоа оштећења у лимфоцитима периферне крви. Имајући у виду да је велики број студија показао да је фреквенца МН у лимфоцитима повећана код различитих канцера и да је МН значајан цитогенетички маркер, праћење фреквенце МН у лимфоцитима је од великог значаја. Ова студија би се односила на евалуацију МН фреквенце у лимфоцитима жена са дијагностикованим интрацервикалним лезијама, а резултати истраживања допринели би сагледавању стања наследног материјала у лимфоцитима периферне крви у зависности од стадијума лезија.

У савременој научној литератури постоје опречни резултати о улози GSTT1 и GSTM1 гена у развоју различитих типова канцера, као и о њиховој улози у различитим популацијама. Имајући у виду ово, у овој студији биће укључене жене са

интрацервикалним лезијама из централне Србије, а резултати ће бити од значаја јер ће омогућити разумевање генетичке основе развоја интрацервикалних лезија.

7. Материјал и методе истраживања

Анализирани узорак сачињавале би жене са дијагностикованим интрацервикалним лезијама грлића материце које су ради оперативног третмана примљене у Клинички центар Крагујевац и Клинички центар Ниш; контролни узорак сачињавале би здраве жене без историје малигнух обољења, хроничних и акутних болести као и интрацервикалних лезија. Све пацијенткиње и здраве контролне жене попуњавале би анкету која би укључивала личне податке, занимање, пушачки статус, податке о ранијим терапијским третманима, употреби контрацептива, као и о начину исхране.

Извођењу експерименталне студије кандидат ће приступити након добијања дозволе Етичког комитета Клиничког центра у Крагујевцу и Етичког комитета Медицинског факултета у Нишу. Експериментални део студије кандидат ће извести у Лабораторији за генетику и Лабораторији за молекуларну биологију Института за биологију и екологију ПМФ-а у Крагујевцу уз примену следећих метода:

- Цитокинезис блок микронуклеус (ЦБМН) тест описан од стране Fenech и Morley (1985) за утврђивање спонтане МН фреквенце у лимфоцитима периферне крви код пацијенткиња и здравих контрола. Фреквенцу МН кандидат би одређивао придржавајући се критеријумима описаних од стране Fenech (2000);
- Мултиплекс PCR методе описане од стране Abdal – Rahman и сарадника (1996), уз незнатне модификације и хоризонталне електрофорезе за утврђивање присуства полиморфизма гена за глутатион С трансферазу Т1 и М1.

За статистичку обраду података кандидат ће користити SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) пакет, за Windows. Резултати ће се сматрати статистички значајним уколико је $p < 0,05$, $p < 0,01$ или $p < 0,001$.

8. Очекивани резултати докторске дисертације

Резултати ове студије би показали да ли жене са интрацервикалним лезијама имају повећан ниво базалних хромозомских оштећења у лимфоцитима периферне крви у односу на контролни узорак здравих жена, као и да ли постоји корелација између фреквенце МН и стадијума интрацервикалне лезије. Такође, резултати ће показати дистрибуцију GSTT1 и GSTM1 гена у испитиваној популацији пацијенткиња и контролних здравих жена.

Добијени резултати ће бити употребљени у научне сврхе и публиковани у међународним научним часописима и саопштени на научним скуповима. Закључци који би произашли из резултата ове студије отворили би више тема за даља истраживања.

9. Оквирни садржај докторске дисертације

Предложена докторска дисертација садржи следећа поглавља:

- 1) Увод
- 2) Циљ истраживања
- 3) Материјал и методе
- 4) Резултати и дискусија
- 5) Закључци
- 6) Литература
- 7) Прилози

10. Име ментора са образложењем

Наставно – научно веће ПМФ-а је за ментора ове докторске дисертације предложило др Оливеру Милошевић - Ђорђевић, редовног професора у Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета у Крагујевцу и Медицинског факултета у Крагујевцу.

Проф. др Оливера Милошевић - Ђорђевић се активно бави истраживањима из уже научне области Генетика и има радове објављене у часописима са SCI листе у складу са стандардима за ментора. У току научно истраживачког рада проф. др Оливера Милошевић - Ђорђевић била је ангажована на пројекатима финансираним од стране Министарства са науку, а у периоду 2006 - 2010. године била је руководиоца пројекта "Студија генетички ризичних фактора у репродуктивној и развојној биологији" – евиденциони број 143008. Тренутно проф. др Оливера Милошевић – Ђорђевић је подруководилац ИИИ пројекта "Преклиничка испитивања биоактивних супстанци" (ПИБАС), евиденциони број 41010.

Имајући у виду циљеве и очекиване резултате ове докторске дисертације, као и област истраживања, сматрамо да проф. др Оливера Милошевић - Ђорђевић испуњава све услове да буде ментор ове докторске дисертације.

11. Научна област истраживања докторске дисертације

Предложена тема докторске дисертације припада области Биологија, ужа научна област Генетика.

12. Научна област чланова Комисије

Предложени чланови комисије се баве научним радом у областима које су релевантне за тему предложене докторске дисертације.

Састав комисије је следећи:

1. Др Оливера Милошевић-Ђорђевић, редовни професор ПМФ-а у Крагујевцу, ужа научна област: Генетика (ментор);
2. Др Слободан Арсенијевић, редовни професор Медицинског факултета у Крагујевцу, ужа научна област: Гинекологија и акушерство;
3. Др Гордана Јоксић, научни саветник Института за нуклеарне науке Винча у Београду, ужа научна област: Генетичка токсикологија.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу изнетих података Комисија доноси закључак да кандидат **Ивана Стошић** испуњава све услове за прихватање теме за израду докторске дисертације. Предложена тема је оригинална и научно оправдана са циљем утврђивања базалног нивоа оштећења у лимфоцитима периферне крви жена са дијагностикованим интрацервикалним лезијама као и утицаја генског полиморфизма у развоју интрацервикалних лезија. Стога, Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Природно-математичког факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата Иване Стошић под називом:

"ФРЕКВЕНЦА МИКРОНУКЛЕУСА И ПОЛИМОРФИЗАМ GSTT1 И GSTM1 ГЕНА У ЛИМФОЦИТИМА ПЕРИФЕРНЕ КРВИ ПАЦИЈЕНТКИЊА У ЗАВИСНОСТИ ОД СТАДИЈУМА ИНТРАЦЕРВИКАЛНЕ ЛЕЗИЈЕ"

У Крагујевцу
01. 10. 2012.

Ч Л А Н О В И К О М И С И Ј Е

Др Оливера Милошевић-Ђорђевић,
редовни професор ПМФ-а и
Медицинског факултета у Крагујевцу,
Ужа научна област Генетика, ментор



Др Слободан Арсенијевић,
редовни професор Медицинског факултета у
Крагујевцу
Ужа научна област Гинекологија и акушерство



Др Гордана Јоксић,
научни саветник Института за нуклеарне науке
"Винча" у Београду
Ужа научна област Генетичка токсикологија


