

**НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ СТОМАТОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Наставно-научно веће Стоматолошког факултета, Универзитета у Београду, је на VI редовној седници у школској 2018/2019. години, одржаној 28.05.2019. године именовала комисију у саставу:

1. Проф. др Весна Даниловић, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду
2. Проф. др Светлана Јовановић, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду
3. Доц др Зоран Јездић, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду
4. Доц др Снежана Санковић-Бабић, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду и
5. Проф. др Ивана Новаковић, Медицински факултет, Универзитет у Београду

за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом: **„Изолација, култивација и карактеризација ћелија пореклом из тумора и туморске маргине пацијената са базоцелуларним карциномом у ин-витро условима “**

Кандидат: др Маја Милошевић

Ментори: Доц др Милан Петровић

Проф. др Јелена Милашин

На основу прегледа приложеног материјала, комисија подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат др Маја Милошевић рођена је 01.10.1988. године у Параћину. Стоматолошки факултет Универзитета у Београду уписала је школске 2007/08. године и дипломирала у марту 2013. године са просечном оценом 8,57 (осам и 57/100). Током студирања, у периоду од 2007 до 2012. године, била је стипендиста Министарства просвете

Републике Србије. Након обављеног приправничког стажа положила је стручни испит 2014. године. Докторске студије уписала је у октобру 2013. године и положила испите са просечном оценом 10,00 (100/100). Школске 2015/2016, ангажована је као студент докторских студија за потребе извођења практичне наставе на предмету Општа и орална биохемија у оквиру интегрисаних академских студија Стоматолошког факултета, Универзитета у Београду а од школске 2016/2017 као студент докторских студија за потребе извођења практичне наставе на предмету Јавно здравље, Менаџмент у стоматологији и Медицинска екологија у оквиру интегрисаних академских студија, студијског програма ОСС зубни техничари и ОСС орална хигијена на Стоматолошком факултету, Универзитета у Београду. На пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије бр. 175075 “Генетичка контрола и молекуларни механизми у малигним, инфламаторним и развојним патологијама орофацијалне регије” ангажована је као истраживач приправник од фебруара 2017. године, а од јуна 2018. године као истраживач сарадник.

Кандидат др Маја Милошевић је до сада објавила 2 рада у врхунским међународним часописима, 1 рад у истакнутом међународном часопису и 2 рада у часопису националног значаја као аутор и коаутор. Учествовала је као аутор и коаутор у 18 радова, 7 радова на међународним научним скуповима и 11 на домаћим научним скуповима, као и 1 коменторство у студентском научноистраживачком раду. Члан је Српског лекарског друштва, Стоматолошке коморе Србије и Друштва генетичара Србије.

А. Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација др Маје Милошевић написана је на 123 стране, и садржи следеће делове: апстракт на српском и енглеском језику, увод, хипотезу и циљеве истраживања, материјале и методе, резултате, дискусију, закључке и литературу. Документована је са 11 табела, 12 графикона и 27 слика.

У **Уводу** кандидат описује клинички значај базоцелуларног карцинома (БЦК), факторе одговорне за његов развој и рецидивирање и важност адекватног избора ширине маргине у хируршкој терапији овог карцинома. Кроз преглед литературе описују се досадашња сазнања о матичним ћелијама коже и канцерским матичним ћелијама. Такође

бави се и механизмима који чине позадину настанка базоцелуларног карцинома а који су у вези са пролиферацијом, поремећајем апоптозе, резистенцијом и др. особинама канцерских матичних ћелија.

У поглављу **Циљеви** истраживања јасно су наведени циљеви студије и хипотеза истраживања:

- Изолација и култивација ћелија из ткива тумора и маргине базоцелуларног карцинома коже лица, врата и поглавине.
- Фенотипска карактеризација субпопулација туморских ћелија као и идентификација потенцијалних канцерских матичних ћелија, преко утврђивања присуства специфичних маркера матичности, у културама туморских и ћелија маргине.
- Одређивање клоногеног, пролиферативног и миграторног потенцијала у генерисаним ћелијским културама.
- Одређивање разлике у биохемијском саставу између туморских и здравих ћелија.
- Одређивање степена резистентности/сензитивности ћелија у култури према цитостатицима.
- Испитивање способности трансдиференцијације туморских матичних ћелија.

Радна хипотеза истраживања: У туморском ткиву базоцелуларног карцинома и ткиву блиске маргине од 3 mm присутне су канцерске матичне ћелије одговорне за ширење, и рецидивирање базоцелуларног карцинома.

Материјали и методе се састоје из поглавља која одговарају фазама лабораторијских испитивања. Детаљно је описан дизајн студије за *in vitro* условима који подразумева изолације и карактеризације ћелија базоцелуларног карцинома, блиске маргине од 3 mm и здраве коже (на удаљености већој од 5 mm од макроскопске границе тумора). Карактеризација ћелија вршена је тестом пролиферације, миграције, тестовима формирања сфера и колонија и раманском спектроскопијом. Присуство маркера матичности и туморских маркера RT-PCR методом и методом проточне цитометрије. Такође, мултипотентност изолованих ћелија испитивана је усмеравањем ћелија у више

ћелијских линија. Степен резистентности ћелија испитиван је тестом митохондријске активности (МТТ) и директним тестом вијабилности ћелија (Neutral Red).

У поглављу **Резултати** најпре су приказани резултати карактеризације ћелија базоцелуларног карцинома, маргине и здраве коже који су документовани графички и сликовито. Већи пролиферативни и миграторни капацитет као и способност формирања сферичних формација и колонија уочава се у туморским ћелија у односу на ћелије маргине и контроле. Раманском спектроскопијом, која је коришћена као допунска метода у карактеризацији ћелија уочава се разлика у биохемијском саставу између туморских и здравих ћелија. Анализом експресије ембрионалних, мезенхималних у туморских маркера карактеристичних за базоцелуларни карцином (RT-PCR методом и методом проточне цитометрије) туморске ћелије показују већу експресију у односу на ћелије маргине и здраве коже (Oct2, Sox2, Nanog, CD44, CD73, BMI-1 и GPR49). Ипак, анализом експресије CD90 и CD44 маркера уочава се фенотипска сличност између туморских ћелија и ћелија маргине. Потврђен је и поремећен сигналног пута карактеристичног за базоцелуларни карцином у изолованим туморским ћелијама, при чему су уочене разлике у експресији једног од циљних гена (GLI1) између ћелија маргине и контроле. Ћелије изоловане из туморског ткива БЦК-а показале су способност диференцијације у две ћелијске линије-остеогеу и хондрогену док су адипогена и неурогена биле негативне. Већи степен резистентности на дејство цитостатика показале су туморске ћелије.

У поглављу **Дискусија** кандидат тумачи добијене резултате и пореди их са резултатима досадашњих релевантних истраживања која су се бавила сличном проблематиком, и даје смернице за даља истраживања. С обзиром да постоји ограничен број студија које су се бавиле испитивањем присуства канцерским матичних ћелија у базоцелуларном карциному и блиској маргини то овим резултатима даје посебан значај. Такође резултати који показују способност трансдиференцијације туморских ћелија указују на посебан значај диференцијационе терапије у терапији овог карцинома.

Закључци пружају одговоре на постављене циљеве и јасно су формулисани. Кандидат наводи да су успешно установљене примерне ћелијске културе базоцелуларног карцинома, одговарајуће маргине и здраве коже. Из културе туморских ћелија и ћелија маргине изолована је субпопулација ћелија са карактеристикама канцерских матичних

ћелија. Туморске ћелије су показале већи пролиферативни и клоногени капацитет и већу миграторну способност у односу на ћелије маргине и контроле. Способност формирања сфера показале су и ћелије тумора и ћелије маргине. У обе врсте култура показана је експресија ембрионалних, мезенхималних и туморских маркера матичности, док су хематопоезни маркери били одсутни. Такође, у туморским ћелијама потврђен је поремећај регулације Sonic Hedgehog сигналног пута. Туморске ћелије показале су способност диференцијације у остеогену и хондрогену ћелијску линију што отвара могућности примене диференцијационе терапије. Већи ниво резистентности на дејство цитостатика показале су туморске ћелије у односу на ћелије маргине и контроле. На основу свих анализа урађених у склопу ове студије, закључак је да ћелије маргина показују јасну фенотипску сличност са туморским ћелијама, што потенцијално указује на присуство канцерских матичних ћелија и у хистолошки чистој маргини.

Литература садржи 268 библиографских јединица из релевантне литературе.

Б. Објављени радови и саопштења који чине део докторске дисертације

Публиковани радови:

1. **Milosevic M**, Lazarevic M, Toljic B, Simonovic J, Trisic D, Nikolic N, Petrovic M, Milasin J. Characterization of stem-like cancer cells in basal cell carcinoma and its surgical margins. *Exp Dermatol.* **2018**; 27(10): 1160-1165. (M 21)

Саопштења на међународним и домаћим скуповима штампана у изводу:

1. Lazarevic M, **Milosevic M**, Petrovic S, Petrovic N, Milasin J, Milovanovic B. The cytotoxic effect of eight different essential oils on squamous and basal cell carcinoma cells. The 10th International Symposium on Neurocardiology, The 9th International Symposium on Noninvasive Electrocardiology, Neurocard. October 12-13. **2018**, Belgrade, Serbia. (M 34)

2. **Milosevic M**, Lazarevic M, Petrovic M, Milasin J. Karakterizacija ćelija tumora i margine bazocelularnog karcinoma lica. 17. Kongres stomatologa Srbije - Međunarodni kongres. 27-29. septembar **2018**, Beograd, Srbija. (M 34)

3. Lazarevic M, **Milosevic M**, Gligorićević T, Milovanovic B, Milasin J. The cytotoxic effect of different types of programmed placebo on squamous and basal cell carcinomas cells,

The 8th International Symposium on Neurocardiology, Neurocard, **2016**, Belgrade, Serbia. (**M 34**)

4. **Milosevic M**, Petrovic M, Toljic B, Milasin J. Expression of stem cell markers isolated from basocellular carcinoma (BCC). 11th Balkan Congress of Human Genetics, September 17-20. **2015**, Belgrade, Serbia. (**M 34**)

5. **Milosevic M**, Lazarevic M, Trisic D, Simonovic J, Toljic B, Petrović M, Milasin J. The correlation between CD44 expression and spheres characteristics, 1st Congress of Molecular Biologists of Serbia, September 20-22. **2017**, Belgrade, Serbia. (**M 64**)

6. **Milošević M**, Lazarević M, Toljić B, Petrović M, Milašin J. Migratorni i proliferativni potencijal kancerskih matičnih ćelija bazocelularnog karcinoma kože lica. 16. Kongres stomatologa Srbije sa međunarodnim učešćem, 21-23. septembar, **2017**, Beograd, Srbija. (**M 64**)

7. **Milošević M**. Uticaj nikotina na proliferativni kapacitet ćelija izolovanih iz bazocelularnog karcinoma. Naučni skup povodom obeležavanja 67. godišnjice Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu „Dostignuća i stremljenja u stomatologiji”, 17-19. jun **2015**, Beograd, Srbija. (**M 64**)

В. Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација др Маје Милошевић представља добро дизајнирану студију која даје значајан допринос у области целуларних, генетичких и молекуларних механизма карцинома коже. С обзиром на то да су постављени циљеви проучени одговарајућим научним методама, резултати јасно представљени и интерпретирани, а дискусија детаљна и свеобухватна, комисија сматра да комплексност ове дисертације указује на научну зрелост кандидата. Након увида у достављени текст, комисија је једногласно оценила да докторска дисертација под називом „Изолација, култивација и карактеризација ћелија пореклом из тумора и туморске маргине пацијената са базоцелуларним карциномом у ин-витро условима“ др Маје Милошевић представља оригинално, самостално и добро документовано истраживање.

Докторска дисертација испуњава све критеријуме прописане Законом о Универзитету и статутима Универзитета и Стоматолошког факултета у Београду. На основу изнетог, предлажемо Наставно-научном већу Стоматолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати извештај и одреди датум јавне одбране ове докторске дисертације.

У Београду, _____

Чланови комисије:

Проф. др Весна Даниловић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Светлана Јовановић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Доц др Зоран Јездић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Доц др Снежана Санковић-Бабић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Ивана Новаковић

Медицински факултет, Универзитет у Београду