

Институт саопштан  
10. мај 2015  
Снежана Штефан

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА  
У КРАГУЈЕВЦУ И СТРУЧНОМ ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ  
НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ**

На редовној седници одржаној 06. 05. 2015. године, Наставно-научно веће Природно-математичког факултета у Универзитета у Крагујевцу, на основу члана 48. Статута Универзитета у Крагујевцу и члана 58. Статута Природно-математичког факултета, је одлуком број 340/IX-2 именовало Комисију за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације под насловом: „**Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије**”, кандидата **Иване Стошић**, дипломираног биолога, у следећем саставу:

1. Др Оливера Милошевић-Ђорђевић, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Генетика и еволуција (ментор)
2. Др Слободан Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Гинекологија и акушерство
3. Др Дарко Грујичић, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Генетика и еволуција
4. Др Гордана Јоксић, научни саветник Института за нуклеарне науке Винча у Београду, ужа научна област: Генетичка токсикологија

На основу приложене документације и рукописа, сагласно члану 58. став 3. Статута Природно-математичког факултета у Крагујевцу, Комисија подноси Наставно-научном већу Природно-математичког факултета следећи

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ**

ПРИМЉЕНО: 10. 06. 2015.			
Орг. јед.	Број	ПРИЛОГ	ВРЕДНОС
07	560/6	-	-

**ИЗВЕШТАЈ**

Кандидат **Ивана Стошић**, дипломирани биолог је сагласно Правилнику о пријави, изради и одбрани докторске дисертације Универзитета у Крагујевцу, поднела рукопис докторске дисертације под насловом: „**Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије**”.

**1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области**

Докторска дисертација кандидата Иване Стошић под називом „**Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне**

**крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије”** је из научне области Биологија, односно уже научне области Генетика.

Предмет истраживања докторке дисертације био је утврђивање базалног нивоа генетичких оштећења у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња са дијагностикованим интрацервикалним лезијама грлића материце и здравих контролних жена, процена утицаја полиморфизма два гена из GST фамилије (GSTT1 и GSTM1) на развој интрацервикалних лезија, као и утврђивање везе између нивоа генетичких оштећења у лимфоцитима периферне крви и статуса GSTT1 и GSTM1 гена. Кандидат је за утврђивање нивоа генетичких оштећења у лимфоцитима периферне крви користио широко примењени цитокинезис-блок микронуклеус (ЦБМН) тест, док је за генотипизацију користио мултиплекс PCR.

Повећана хромозомска нестабилност је једна од карактеристика патолошких стања, а корелација између фреквенце микронуклеуса (МН) у лимфоцитима периферне крви и различитих патолошких стања потврђена је у многим студијама. Резултати истраживања у оквиру ове докторске дисертације показали су да пацијенткиње са дијагностикованим интрацервикалним лезијама (LSIL, HSIL и Ca in situ/Ca invsivum) имају већа базална генетичка оштећења у лимфоцитима периферне крви, што је регистровано значајно већом фреквенцом МН у лимфоцитима и већом заступљеношћу бинуклеусних (БН) ћелија са већим бројем МН у односу на здраву контролну групу жена ( $13,40 \pm 4,54$  МН/1000 БН,  $14,64 \pm 4,56$  МН/1000 БН,  $14,91 \pm 3,17$  МН/1000 БН у односу на  $7,73 \pm 2,60$  МН/1000 БН, ретроспективно). Од анализираних модулирајућих фактора, као што су: степен лезије, године старости, пушачке навике, спонтани и намерни побачаји, статус GSTT1 и GSTM1 гена, мултиплом регресионом анализом показано је да су само године старости у групи пацијенткиња имале значајан ефекат на МН фреквенцу. Између осталог, резултати истраживања ове дисертације указали су на успорену кинетику лимфоцита периферне крви пацијенткиња са новодијагностикованим карциномом. Мултиплом регресионом анализом у групи пацијенткиња показано је да само степен лезије у утиче на вредности индекса нукелусне деобе (NDI – Nuclear Division Index), док ниједан од анализираних фактора није утицао на вредности индекса у контролној групи жена.

У циљу бољег разумевања канцерогенезе и фактора ризика за развој интрацервикалних лезија, део истраживања односио се на процену утицаја генске конституције на развој лезија. Досадашња истраживања била су усмерена на процену утицаја два гена из GST фамилије, GSTT1 и GSTM1. Резултати ове дисертације указали су на протективну улогу GSTM1 гена, док GSTT1 нулти генотипа није значајно повећавао ризик за развој лезија. Анализом у односу на степен интрацервикалне лезије, резултати су показали да GSTM1 нулти генотип повећава ризик једино за развој раних фаза лезија – LSIL.

На основу резултата који су приказани у докторској дисертацији кандидата **Иване Стошић**, Комисија је закључила да ова докторска дисертације представља значајан допринос научној области Биологија, односно ужој научној области Генетика.

## 2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Узимајући у обзир доступне литературне податке из области поднетог рукописа дисертације, постављене хипотезе, циљеве и резултате истраживања, Комисија је закључила да је докторска дисертација под називом „**Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије**” кандидата **Иване Стошић** резултат оригиналног научног рада.

## 3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

Кандидат Ивана Стошић, бави се научно-истраживачким радом у области Биологија. Као стипендиста Министарства за науку и технолошки развој Ивана Стошић је од јуна 2008. године до јануара 2011. године била ангажована на пројекту под називом *"Студија генетички ризичних фактора у репродуктивној и развојној биологији"* – евиденциони број 143008, руководилац пројекта проф. др Оливера Милошевић-Ђорђевић. Од јануара 2011. године до маја 2013. године кандидат је био ангажован на пројекту *"Преклиничка испитивања биоактивних супстанци"* (ПИБАС) – евиденциони број 41010, који финансира Министарство за просвету, науку и технолошки развој. Током периода ангажовања на пројектима, Ивана Стошић се активно бавила научно-истраживачким радом, а резултати рада кандидата публиковани су у научним часописима са ISI листе и то у два рада у међународним часописима из категорије М22 и девет радова у часописима из категорије М23. Резултати рада кандидата саопштени су и на међународним научним скуповима (М34) у виду три саопштења штампана у изводу.

### Научни радови објављени у међународним часописима (М22)

1. Vrndić OB, Milošević-Djordjević OM, Mijatović Teodorović LC, Jeremić MZ, ***Stošić IM***, Grujičić DV, Zivancević Simonović ST. Correlation between micronuclei Frequency in peripheral blood lymphocytes and retention of 131-I in thyroid cancer patients. *Tohoku J. Exp. Med.* 2013;229:115-124. ISSN 0040-8727; IF=1,283
2. Milošević-Djordjević O, ***Stošić I***, Grujičić D, Banković D, Arsenijević S. Cervical precancerous lesions-chromosomal instability in peripheral blood lymphocytes in relation to lesion stage, age and smoking habits. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 2011;90:1082-1087. ISSN 0001-6349; IF=1,771

### Научни радови објављени у међународним часописима (М23)

1. Kosanić M, Ranković B, Stanojković T, ***Stošić I***, Grujičić D, Milošević-Djordjević O. *Lasallia pustulata* lichen as possible natural antigenotoxic, antioxidant, antimicrobial and anticancer agent. *Cytotechnology* 2015. DOI 10.1007/s10616-015-9856-y. ISSN 0920-9069; IF=1,449
2. Grujičić D, ***Stošić I***, Kosanić M, Stanojković T, Ranković B, Milošević-Djordjević O. Evaluation of in vitro antioxidant, antimicrobial, genotoxic and anticancer activities of lichen *Cetraria islandica*. *Cytotechnology* 2014;66:803-813. ISSN 0920-9069; IF=1,449

3. **Stošić I**, Grujičić D, Arsenijević S, Milošević-Đorđević O. Influence of Glutathione - S - Transferase (GSTT1 and GSTM1) polymorphism on baseline micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes. *Genetika-Belgrade* 2014;46:649-659. ISSN 0534-0012; IF=0,492
4. **Stošić I**, Grujičić D, Arsenijević S, Brkić M, Milosević-Djordjević O. Glutathione S-transferase T1 and M1 polymorphisms and risk of uterine cervical lesions in women from Central Serbia. *Asian Pac. J. Cancer. Prev.* 2014;15:3201-3205. ISSN 1513-7368; IF=1,500
5. Milošević-Djordjević O, **Stošić I**, Stanković M, Grujičić D. Comparative study of genotoxicity and antimutagenicity of methanolic extracts from *Teucrium chamaedrys* and *Teucrium montanum* in human lymphocytes using micronucleus assay. *Cytotechnology* 2013;65:863-869. ISSN 0920-9069; IF=1,449
6. Arsenijević S, Ljujić B, **Stošić I**, Grujičić D, Marinković D, Milosević-Djordjević O. Polymorphisms of the GSTT1 and GSTM1 genes in women of Central Serbia - absence of association with uterine myoma. *Arch. Biol. Sci.* 2013;65:415-420. ISSN 0354-4664; IF=0,607
7. Milošević-Djordjević O, **Stošić I**, Grujičić D, Zelen I, Sazdanović P. Chromosomal instability in peripheral blood lymphocytes of patients with reproductive failure assessed by micronucleus assay. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2012;63:367-375. ISSN 0004-1254; IF=0,674
8. Milosević-Djordjević O, **Stošić I**, Vucković M, Grujičić D, Marinković D. 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. ISSN 1107-0625; IF=0,607
9. Grujičić D, **Stošić I**, Milosević-Djordjević O. The antibiotic erythromycin did not affect micronucleus frequency in human PHA-stimulated lymphocytes. *Arch. Biol. Sci.* 2009;61:179-185. ISSN 0354-4664; IF=0,238

#### **Саопштења на међународним научним скуповима (МЗ4)**

1. **Stošić I**, Grujičić D, Arsenijević S, Marinković D, Milošević-Đorđević O: 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. ISBN 978-86-87109-08-7
2. **Stošić I**, Ljujić B, Grujičić D, Marinković D, Milošević-Đorđević O: 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. ISBN 978-86-87109-08-7
3. Grujičić D, Milošević-Đorđević O, **Stošić I**, Arsenijević S, Marinković D: Evaluation of genotoxic effect of tocolytic ritodrine, antiarrhythmic verapamil and antibiotic erythromycin on the micronuclei frequency in human peripheral blood lymphocytes. IV

#### 4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Узимајући у обзир циљеве који су предвиђени при пријављивању теме и прегледом поднетог рукописа дисертације, Комисија сматра да је докторска дисертација кандидата **Иване Стошић** испунила предвиђене задатке и да поднета докторска дисертација у потпуности одговара пријављеној теми „**Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије**”.

#### 5. Научни резултати докторске дисертације

Резултати научно-истраживачког рада кандидата везаног за докторску дисертацију публиковани су у часописима са ISI листе, и то један рад у часопису категорије **M22**, два рада у часописима **M23** категорије. Такође резултати дисертације су саопштени и на једном међународном научном скупу (**M34**).

##### Научни радови објављени у међународним часописима (M22)

1. Milošević-Djordjević O, ***Stošić I***, Grujičić D, Banković D, Arsenijević S. Cervical precancerous lesions-chromosomal instability in peripheral blood lymphocytes in relation to lesion stage, age and smoking habits. Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2011;90:1082-1087 ISSN 0001-6349; IF=1,771

##### Научни радови објављени у међународним часописима (M23)

1. ***Stošić I***, Grujičić D, Arsenijević S, Milošević-Đorđević O. Influence of Glutathione - S - Transferase (GSTT1 and GSTM1) polymorphism on baseline micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes. Genetika-Belgrade 2014;46:649-659. ISSN 0534-0012; IF=0,492
2. ***Stošić I***, Grujičić D, Arsenijević S, Brkić M, Milošević-Djordjević O. Glutathione S-transferase T1 and M1 polymorphisms and risk of uterine cervical lesions in women from Central Serbia. Asian Pac. J. Cancer. Prev. 2014;15:3201-3205. ISSN 1513-7368; IF=1,500

##### Саопштења на међународним научним скуповима (M34)

1. ***Stošić I***, Grujičić D, Arsenijević S, Marinković D, Milošević-Đorđević O: 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. ISBN 978-86-87109-08-7

#### 6. Применљивост и корисност резултата у теорији и пракси

Канцер представља глобални проблем и постоји велико интересовање за проналажење релевантних биомаркера који би могли да се користе у дијагностици. Резултати истраживања у оквиру ове докторске дисертације указују да је хромозомска нестабилност у лимфоцитима периферне крви карактеристика карцинома грлића

материце и да већ код жена са преанцерогеним лезијама постоји хромозомска нестабилност у њиховим лимфоцитима. Такође, резултати докторске дисертације указују на могућност примене анализе МН фреквенце у лимфоцитима периферне крви као допунског релевантног биомаркера у дијагностиковању лезија. У докторској дисертацији дат је увид на статус GSTT1 и GSTM1 генског профила у популацији жена из централне Србије. Имајући у виду резултате досадашњих студија, резултати докторске дисертације кандидата **Иване Стошић** доприносе бољем разумевању фактора ризика за развој интрацервикалних лезија.

## **7. Начин презентирања резултата научној јавности**

Резултати научно-истраживачког рада кандидата **Иване Стошић** представљени су у оквиру докторске дисертације под називом „**Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије**”, као и у виду научних радова публикованих у часописима са ICI листе (један из M22 категорије и два из M23 категорије), и у виду једног саопштења на међународном скупу штампаног у изводу.

Докторска дисертација написана је на 125 страна и садржи 10 слика, 13 шема, 15 табела, 22 графика и 215 референци. Дисертација је подељена на 8 поглавља: **Увод** (1-29), **Циљ студије** (30), **Материјал и методе** (31-33), **Резултати** (34-90), **Дискусија** (91-101), **Закључци** (102-103), **Референце** (104-121) и **Прилог** (122-125).

У **Уводу** кандидат описује промене у генетичком материјалу које се могу јавити у телесним ћелијама пацијената оболелих од малигних болести. Описани су тестови за детекцију промена у генетичком материјалу, са посебним освртом на ЦБМН тест. Приказане су предности коришћења овог теста, базална фреквенца МН у лимфоцитима периферне крви, као и фактори који могу да модификују фреквенцу МН у лимфоцитима. Такође, описана је GST (Glutathione-S-transferase) фамилија гена, са освртом на Mu (GSTM) и Theta (GSTT) класу. У овом поглављу приказана је анатомија грлића материце као и патолошке промене које се могу јавити на грлићу материце. Дат је увид на факторе ризика за развој лезија на грлићу материце као и епидемиологија рака грлића материце у свету и Србији.

У поглављу **Циљ студије** јасно су дефинисани циљеви студије који су обухваћени овом докторском дисертацијом. Циљеви дисертације били су да се утврди базални ниво хромозомских оштећења код новодијагностикованих пацијенткиња са интрацервикалним лезијама грлића материце и здравих жена, као и корелација генетичке нестабилности и здравственог стања, демографских карактеристика, животних навика и репродуктивне историје пацијенткиња. Такође, циљ је био да се процени утицај полиморфизма два гена GSTT1 и GSTM1 у развоју интрацервикалних лезија, при чему је анализиран појединачни ефекат гена, ефекат интеракције ових гена и ефекат интеракције гена са демографским и животним навикама. На крају, анализирано је постојање корелације између генског профила и нивоа базалног оштећења код испитиване популације жена.

Поглавље **Материјал и методе** садржи податке о испитиваној популацији. Узорак су чиниле 104 жене са дијагностикованим интрацервикалним лезијама грлића материце (32 LSIL, 33 HSIL и 39 CC – Ca in situ/Ca invasivum) и 50 контролних здравих жена. У овом поглављу кандидат описује методе које је користио у експерименталном делу истраживања – ЦВМН тест на лимфоцитима периферне крви за анализу фреквенце МН и мултиплекс PCR за генотипизацију GSTT1 и GSTM1 гена. Такође, наведени су и статистички тестови који су коришћени за обраду добијених података. Вредности  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  и  $p < 0,001$  су сматране статистички значајним.

У поглављу **Резултати** кандидат је на прегледан и систематичан начин табеларно и графички приказао резултате истраживања. Ово поглавље садржи укупно 15 табела и 22 графика.

У **Дискусији** кандидат објашњава резултате добијене у оквиру докторске дисертације, упоређује их и коментарише у односу на доступне литературне податке из ове области. Кандидат у овом делу докторске дисертације предлаже могуће механизме којима се објашњавају добијени резултати.

У поглављу **Закључци** кандидат је приказао опште закључке који се базирају на добијеним резултатима истраживања у оквиру ове дисертације.

Поглавље **Референце** садржи списак од 215 референци које је кандидат цитирао у докторској дисертацији.

У **Прилогу** докторске дисертације приказане су слике ћелија са МН, нуклеусним пупољцима (НП) и нуклеоплазматским мостовима (НПМ) као и слика PCR продуката раздвојених електрофорезом на агарозном гелу.

Поред наведених поглавља дисертација садржи Идентификациону страницу докторске дисертације, Захвалницу, Извод на српском и енглеском језику, Списак слика, шема, табела и графика, Биографију, Библиографију, Кључну документацијску информатику на српском и енглеском језику и штампане радове проистекле из дисертације.

Резултати ће бити презентовани и на јавној одбрани докторске дисертације, након прихватања овог Извештаја од стране Наставно-научног већа Природно-математичког факултета и Стручног већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу.

## ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу прегледаног рукописа и достављеног материјала, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата **Иване Стошић** под насловом **“Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије”** представља резултат оригиналног научно-истраживачког рада и да резултати дисертације имају значајан допринос у научној области Биологије.

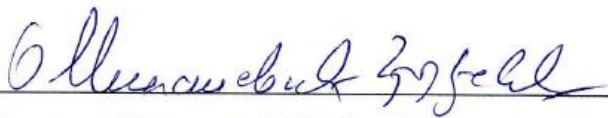
Резултати поднете докторске дисертације публиковани су у виду 3 научна рада у часописима са ISI листе (један M22 категорије и два рада M23 категорије) и једног саопштења на међународном научном скупу штампаног у изводу.

Сматрамо да су испуњени сви научни, стручни и административни услови за прихватање поднете докторске дисертације и предлажемо Наставно-научном већу Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу да прихвати докторску дисертацију под насловом **„Фреквенца микронуклеуса и полиморфизам GSTT1 и GSTM1 гена у лимфоцитима периферне крви пацијенткиња у зависности од стадијума интрацервикалне лезије”** кандидата **Иване Стошић** и спроведе даљу процедуру у циљу одобравања одбране докторске дисертације.

У Крагујевцу, 8.06.2015.



Комисија:



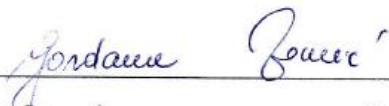
Др Оливера Милошевић-Ђорђевић, редовни професор Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Генетика и еволуција (ментор)



Др Слободан Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Гинскологија и акушерство



Др Дарко Грујичић, доцент Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област: Генетика и еволуција



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