

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију</p> <p>11.09.2017. године, Наставно-научно веће Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду</p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <ol style="list-style-type: none"> Проф. др Кармен Станков, редовни професор, Биохемија, 01.09.2017. године, Медицински факултет Универзитета у Новом Саду. Проф. др Биљана Божин, ванредни професор, Фармагнозија са фитотерапијом, 08.10.2014. године, Медицински факултет Универзитета у Новом Саду. Проф. др Силвана Андрић, редовни професор, Физиологија животиња, 21.07.2008. године, Природно-математички факултет Универзитета у Новом Саду.
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Никола (Бранимир) Јојић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 05.05.1985., Нови Сад, Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив:</p> <p>Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, интегрисане академске студије фармације, дипломирани фармацеут-магистар фармације</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија:</p> <p>2010., докторске академске студије клиничке медицине</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: /</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: /</p>
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:
Компаративно <i>in vitro</i> испитививање ефеката угљеничних наноцеви у нормалним и малигним ћелијама плућа
IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:
<p>Докторска дисертација кандидата Николе Јојића је написана систематично, јасним и разумљивим стилем на 114 странице. Садржи све неопходне делове оригиналног научног рада који су организовани у 7 поглавља: увод, радне хипотезе и циљеви истраживања, материјал и методе, резултати, дискусија, закључак и литература. Дисертација садржи 10 слика, 30 графикона и 4 табеле. Литература са 116 референци садржи оригиналне и прегледне радове, чиме пружа увид у најновија сазнања у испитиваној области и у складу је са важећим правилима за цитирање. На почетку докторске дисертације дата је кључна документација са изводом на српском и енглеском језику.</p>

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов докторске дисертације је јасно и прецизно формулисан, у складу са садржајем истраживања. Комисија за оцену дисертације, увидом у присуство скраћенице УНЦ (угљеничне наноцеви) у наслову, сматра да с обзиром да је у наслову дисертације наведен и пун назив термина „угљеничне наноцеви“, скраћеница није потребна, и сугерише да наслов дисертације гласи као и до сада, само без скраћенице УНЦ: „Компаративно *in vitro* испитивање ефеката угљеничних наноцеви у нормалним и малигним ћелијама плућа“.

Поглавље **Увод** је написано систематично и пружа детаљан преглед савремених сазнања о изучаваној проблематици. У уводу докторске дисертације кандидат најпре даје основне податке о структурним карактеристикама једнослојних угљеничних наноцеви (енгл. *Single-Walled Carbon Nanotubes*, **SWCNT**), њиховим биолошким ефектима, токсичним ефектима и ћелијским сигналним путевима у којима учествују. Након тога, дат је детаљан приказ молекуларних механизма цитотоксичног деловања једнослојних угљеничних наноцеви, односно повезаности оксидативног стреса индукованог угљеничним наноцевима и апоптозе. Аутор затим објашњава молекуларне механизме којима оксидативни стрес доводи до токсичности угљеничних наноцеви, као и улоге оксидативног стреса у покретању процеса апоптозе. Анализирана је и улога Н-ацетил цистеина и природних полифенола у одбрани ћелије од оксидативног стреса са освртом на ресвератрол и проантоцијанидоле. На крају увода, аутор се осврће на улогу трансмисионе електронске микроскопије у испитивањима ефеката и транслокације једнослојних угљеничних наноцеви. Литературни преглед у оквиру увода је актуелан и опсежан.

Комисија сматра да увод пружа савремен и свеобухватан приказ проблематике којом се истраживање бави. Указано је на уочени проблем и на детаље који још нису разјашњени. Дефинисано је подручје истраживања и прецизно су објашњени разлози истраживања.

У поглављу **Радне хипотезе и циљеви истраживања** јасно су дефинисани основни задаци истраживања који су омогућили доношење конкретних закључака. Генерална поставка и циљ доктората је био да се детаљно утврде улоге једнослојних угљеничних наноцеви, појединачно и у комбинацији са антиоксидантима, на свим нивоима функционалне организације ћелије (експресији гена, активности ензима, функционалној морфологији, вијабилности, пролиферацији) коришћењем нормалне и малигне ћелијске линије. Стога су специфични циљеви истраживања били да се испита утицај једнослојних угљеничних наноцеви на вијабилност ћелија, њихову функционалну морфологију и показатеље оксидативног стреса и антиоксидативне одбране, као и на експресију гена који кодирају синтезу протеина главних маркера процеса пролиферације, апоптозе и антиоксидативне заштите у нормалним и малигним ћелијама плућа. Хипотезе су јасно формулисане у односу на постављене циљеве истраживања, логичне и засноване на добро аргументованим основама.

Комисија сматра да су циљеви истраживања јасно и прецизно дефинисани, а хипотезе постављене адекватно у односу на циљеве истраживања, те у потпуности усклађени са формулацијама наведеним у пријави теме докторске дисертације.

Материјал и методе одговарају принципима методологије научно-истраживачког рада и принципима добре лабораторијске праксе. Методологија је јасно и прецизно описана у раду. Истраживање је изведено у Лабораторији за експерименталну онкологију Института за онкологију Војводине, у Лабораторији за биохемију и молекуларну биологију Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду, као и на Институту за хистологију и ембриологију „Александар Ђ. Костић“ Медицинског факултета, Универзитета у Београду. Период истраживања је био од фебруара 2013. године до септембра 2016. године. Експериментални део је подељен у неколико делова у циљу испитивања биолошких ефеката једнослојних угљеничних наноцеви у *in vitro* системима. У *in vitro* огледима је најпре помоћу МТТ теста испитана цитотоксичност једнослојних угљеничних наноцеви у нормалним и малигним ћелијама плућа. Потом је дефинисана унутарћелијска локализација једнослојних угљеничних наноцеви применом трансмисионог електронског микроскопа. Присуство ћелија у апоптози детектовано је применом проточне цитометрије. Ниво експресије гена који кодирају протеине главне маркере процеса ћелијске пролиферације, апоптозе и антиоксидативне заштите у нормалним и малигним ћелијама плућа применом RQ-PCR методе. Такође, одређена је и активност антиоксидативних ензима биохемијским кинетичким спектрофотометријским методама.

Комисија сматра да су примењене методе истраживања описане јасно и детаљно чиме се у

потпуности омогућава поновљивост експеримената. Изабране методе статистичке обраде података у потпуности су адекватне и примерене истраживачком задатку. Комисија сматра да је избор коришћених метода испитивања адекватан, што обезбеђује добијање поузданих резултата у складу са постављеним циљевима дисертације.

Резултати испитивања су уверљиво, прегледно и стручно приказани табеларно и графички. Сви табеларни и графички прикази праћени су јасним текстуалним тумачењима. Резултати су подељени у више целина због разумљивости и јасно демонстрирају претходно текстуално објашњене елементе. Резултати произлазе из примењене методологије уз коришћење адекватних статистичких метода. Резултати добијени у оквиру ове дисертације дају оригиналан допринос разумевању ефеката једнослојних угљеничних наноцеви на свим нивоима функционалне организације ћелије: вијабилности, регулације процеса ћелијске пролиферације, апоптозе и оксидативног стреса у нормалним и малигним ћелијама плућа, као и сагледавања унутарћелијске локализације једнослојних угљеничних наноцеви и њихове интеракције и утицаја на морфолошке промене у ћелији.

Комисија сматра да су резултати у овој дисертацији приказани на систематичан и прегледан начин, логичним редоследом и да су свеобухватни и јасни за интерпретацију.

Дискусија је свеобухватна и јасно написана, објективно анализира приказане резултате, по редоследу који је логичан, тако да представља хармоничну целину. Кандидат аргументовано и критички анализира резултате истраживања и упоређује их са релевантним наводима из литературе. Литературни подаци су адекватно одабрани, актуелни и релевантни за извођење валидних закључака из проучаване проблематике. Коментари и тумачења резултата су логични. Дискусија добијених резултата је исцрпна, научно утемељена, те указује на завидно познавање проучаване проблематике уз критички осврт у односу на актуелну литературу.

Комисија сматра да је дискусија добијених резултата исцрпна, правилно и критички постављена и уверљива. Прецизно су истакнуте сличности и разлике између резултата добијених у дисертацији и резултата из литературе.

У поглављу **Закључак**, на основу добијених резултата и дискусије изведени су јасни и концизни, научно засновани и поуздани закључци. Закључци су реални, приказани прегледно и логично изведени из добијених резултата и дискусије.

Комисија сматра да закључци произлазе из постављених циљева, примењене методологије и резултата истраживања.

Поглавље **Литература** садржи списак 116 литературних навода цитираних по Ванкуверским правилима на прописан начин. Избор референци је актуелан и примерен тематици која је предмет ове дисертације.

Комисија позитивно оцењује све делове докторске дисертације.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Stankov K, Bogdanovic G, Kojic V, **Jojic N**, Stankov S, Popovic L, Popovic S. Expression analysis of genes involved in apoptosis of malignant haematopoietic cell lines treated with 5-azacytidine. J BUON. 2011;16:116-22 (M23, IF=0.607, 177/196)

Jojic N, Kojic V, Kojic D, Stankov K, Bogdanovic G. Cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes to human lung carcinoma cells: the influence of N-acetylcysteine. Archive of Oncology, 2013;21:59-61 (M52)

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Након спроведених испитивања и анализе добијених резултата, могу се донети следећи закључци:

- Наночестице, једнослојне угљеничне наноцеви (SWCNT) показују умерену токсичност.
- Антипролиферативни ефекат након примене једнослојних угљеничних наноцеви више је изражен код малигних A549 у поређењу са нормалним MRC-5 ћелијама.
- Цитотоксични ефекат примене једнослојних угљеничних наноцеви у MRC-5 ћелијама

није умањен применом антиоксиданата ресвератрола и проантоцијанидола у комбинацији са SWCNT, за разлику од малигних A549 ћелија где је примена ова два антиоксиданта у ниским концентрацијама испољавала цитопротективни ефекат.

- Једнослојне угљеничне наноцеви улазе у ћелију и ступају у интеракцију са ћелијском мембраном.
- Апоптоза и некроза нису били основни механизми цитотоксичног деловања једнослојних угљеничних наноцеви.
- Комбинацијом једнослојних угљеничних наноцеви са антиоксидантима, ресвератролом и проантоцијанидолима индукује се већи проценат апоптозе и некрозе.
- Компаративна анализа резултата генске експресије MRC-5 и A549 ћелија након третмана са једнослојним угљеничним наноцевима појединачно и у комбинацији са антиоксидантима указала је на комплексност и разноликост биолошког одговора испитиваних ћелија.
- Примена једнослојних угљеничних наноцеви у MRC-5 ћелијама доводи до смањења специфичне активности ензима супероксид дисмутазе и глутатион редуктазе, повећава специфичну активност глутатион пероксидазе и не утиче на промену специфичне активности глутатион С-трансферазе и количине глутатиона у ћелији.
- Примена једнослојних угљеничних наноцеви у A549 ћелијама доводи до смањења специфичне активности ензима супероксид дисмутазе, не утиче на промену специфичне активности ензима глутатион редуктазе, глутатион пероксидазе и глутатион С-трансферазе и доводи до повећања количине глутатиона у ћелији.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Кандидат Никола Јојић је показао систематичан научно-истраживачки приступ анализи великог броја добијених резултата. Резултати истраживања у односу на постављене циљеве приказани су систематично, детаљно су обрађени и критички продискутовани. Графички прикази и табеле доприносе прегледности резултата. Подаци добијени у току истраживања обрађени су и анализирани помоћу адекватних статистичких тестова. Добијени резултати су јасно тумачени на основу најновијих доступних научних сазнања, на прикладан начин анализирани и логички повезани са литературним наводима.

Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења резултата истраживања.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Докторска дисертација је написана у потпуности у складу са предложеним испитивањима и образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Докторска дисертација садржи све битне елементе оригиналног научног рада на основу којих би се истраживање могло поновити. Рад је написан концизно и разумљиво, и резултат је самосталног истраживања кандидата. Резултати су оригинални и дају пионирски допринос бољем разумевању биолошког ефекта широко употребљаваних једнослојних угљеничних наноцеви.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Докторска дисертација даје оригиналан научни допринос из области наномедицине, односно доприноси бољем разумевању биолошког одговора нормалних и малигних ћелија плућа на деловање једнослојних угљеничних наноцеви, појединачно и у комбинацији са антиоксидантима. Боље разумевање природе и значаја молекуларних механизма који леже у основи ћелијског одговора здравих и малигних ћелија на деловање угљеничних наноцеви пружиће нове могућности контроле њихове дистрибуције, деградације, токсичности и примене овог наноматеријала на пољу фармацеутике, медицинске

<p>дијагностике, терапије карцинома, али и као материјала за имплантате и регенерацију ткива.</p> <p>Према расположивим подацима ово истраживање је јединствено и оригинално у свеобухватном приступу компаративног <i>in vitro</i> испитивања ефеката једнослојних угљеничних наноцеви, појединачно и у комбинацији са антиоксидантима ресвератролом и проантоцијанидолима у MRC-5 и A549 ћелијама, на свим значајнијим нивоима функционалне организације ћелије. Осим тога, трансмисионом електронском микроскопијом испитана је тачна локализација једнослојних угљеничних наноцеви у испитиваним ћелијама, као и врсте интеракција, утицај на морфолошке промене и потенцијална ћелијска оштећења. Савремена сазнања о безбедности примене угљеничних наноцеви су оскудна, а резултати ове докторске дисертације дају оригинални и пионирски научни допринос са аспекта пружања значајне полазне основе за даља испитивања утицаја једнослојних угљеничних наноцеви на здраве и малигне ћелије, чиме би се повећала безбедност примене једнослојних угљеничних наноцеви у будућности, како на пољу наномедицине тако и на другим пољима.</p> <p>Сходно свему, иако су истраживања у оквиру ове докторске дисертације фундаменталног карактера, резултати су применљиви у свакодневној медицинској и широј пракси.</p>
<p>4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања</p> <p>Комисија није уочила никакве формалне нити суштинске недостатке докторска дисертације који би могли утицати на резултате истраживања.</p>
<p>X ПРЕДЛОГ:</p>
<p>На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:</p>
<p>- да се докторска дисертација под називом " Компаративно <i>in vitro</i> испитивање ефеката угљеничних наноцеви у нормалним и малигним ћелијама плућа" прихвати, а кандидату Николи Јојићу одобри одбрана</p>

датум: 26.10.2017.године

Чланови Комисије

Проф. др Кармен Станков
- председник комисије -

Проф. др Биљана Божин
- члан комисије -

Проф. др Силвана Андрић
- члан комисије -

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.