

карцинома међу женама у Европи. Процењене старосне стандардизоване стопе инциденце и морталитета за ову форму карцинома у Европи износе 16,6 и 2,9 на 100.000, са годишњом преваленцом од 113.930.

Развој карцинома ендометријума може бити повезан са различитим факторима ризика, као што су гојазност, физичка неактивност, инсулинска резистенција, дијабетес, вишак естрогена и године менструације. Анализом патолошке хистологије, клиничких исхода и промена на молекуларном нивоу, ова форма карцинома може се поделити на туморе са хистологијом ниског и високог ризика.

Ендометроидни карциноми ниског ризика обично су добро диференцирани и у раном стадијуму, што резултује високим стопама преживљавања и добрим прогнозама. Са друге стране, тумори високог ризика, који чине око 10-20% случајева у касној фази, имају лоше прогнозе и укупна преживљавања. Ти тумори обухватају дијагнозе слабо диференцираног ендометроидног, серозног или светло ћелијског карцинома.

МикроРНК (миРНК) су мали некодирајући РНК молекули, који функционишу као молекули водичи током утишавања циљних гена на нивоу информационог РНК (иРНК). Већина се транскрибује из секвенци ДНК гена у примарну миРНК (при-миРНК), затим се обрађује у прекурсорску миРНК (пре-миРНК) и на крају путем ензима DICER у дволанчану миРНК. Један ланац се селекује за зрелу миРНК у оквиру РНК-индукованог утишавајућег комплекса (енгл. *RNA-induced silencing complex - RISC*) који делује као машинерија у процесу интерференције РНК. МикроРНК представљају фундаментални регулатор у ћелијама, учествујући у различитим молекуларним процесима као што су раст, деоба и диференцијација ћелија, апоптоза и одговор на стрес. Ова класа малих регулаторних молекула РНК, не само што утиче на развој и функционисање ћелија, већ такође може имати кључну улогу у етиологији и прогресији различитих болести, укључујући и малигне туморе. Својом способношћу да утиче на различите аспекте ћелијског одговора, миРНК настоје да балансирају и одржавају хармонију у ћелијским процесима, играјући битну улогу у одржавању здравља и равнотеже у ткивима. Поремећај у експресији миРНК је показана код многих карцинома, стога неке од ових миРНК имају велики потенцијал за биомаркере. Утишавајући своје циљане гене, miR-200a, miR-21, miR-210 miR-126, и miR-130a имају значајно место у регулацији молекуларних процеса настанка и прогресије тумора, као што су ангиогенеза, инвазија и миграција.

Стандардна дијагностичка процедура карцинома ендометријума обухвата гинеколошки преглед, ултразвук, биопсију ендометријума и патохистолошку верификацију. Карциноми ендометријума у узнапредовалом стадијуму представљају облике болести са озбиљним ризиком, често доводећи до фаталних исхода. Насупрот томе, пацијенти који су у раним фазама ове болести имају успешне могућности за излечење, а та излечења се најчешће постижу хистеректомијом. Пошто не постоји адекватан скрининг тест за карцином ендометријума, неопходно је проучити и открити нове потенцијалне тумор маркере за ову болест. Испитивања која се фокусирају на анализу профила експресије гена и миРНК могу додатно унапредити тренутно разумевање основних молекуларних механизма карцинома ендометријума, пружајући нове увиде у дијагнозу, прогнозу и идентификацију иновативних терапеутских приступа. Многе студије су указале на кључну улогу молекула миРНК у формирању тумора, у процесима инвазије и метастазирања, регулишући кључне туморске супресоре и онкогене на пост-

транскрипционом нивоу. Према томе, истраживање нивоа експресије миРНК показује снажан потенцијал у дијагностици и прогнози ових обољења.

Циљ докторске дисертације је истраживање експресије циљаних молекула миРНК и њихових регулаторних гена како би се идентификовао одговарајући панел који би могао бити потенцијално коришћен за рано откривање карцинома ендометријума.

2. Образложење предмета, метода и циља који уверљиво упућују да је предложена тема од значаја за развој науке

Истраживање кандидата Стефана Благојевића обухвата молекуларно-биолошке анализе са нагласком на миРНК молекуле које регулишу патофизиолошке процесе, укључујући ангиогенезу, инвазију и миграцију, у контексту карцинома ендометријума. Основни циљ ових анализа је идентификација потенцијалних туморских маркера, што би значајно допринело побољшању разумевања и напретку у дијагностици и лечењу карцинома ендометријума. Општи циљ докторске дисертације обухвата проучавање нивоа експресије и дефинисање дијагностичког потенцијала миРНК, иРНК молекула и протеина који играју кључну улогу у малигној трансформацији ендометријума. Ово истраживање такође прати промене у експресији биомаркера у вези са клиничко-патолошким карактеристикама. Додатно, изучавање ефекта полиморфизма (rs11614913) у гену за miR-196a2 унапређује разумевање ризика од појаве карцинома ендометријума. Овакво истраживање пружа увиде у комплексне биолошке процесе, нудећи и нове перспективе за бољу дијагностику и циљане терапијске приступе.

На основу прегледа литературе и експерименталних истраживања спроведених у Лабораторији за ћелијску и молекуларну биологију, Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу, постављене су следеће

Хипотезе:

- Експресија миРНК молекула (miR-200a, miR-21, miR-210, miR-126 и miR-130a) који учествују у процесу малигне трансформације се разликује између ткива карцинома ендометријума и контролних узорака, као и између различитих клиничко-патолошких карактеристика пацијената.
- Ниво експресије иРНК молекула за *DICER1*, *AGO2*, *PTEN*, *HIF-1a*, *VEGF* гене који су укључени у процесе биогенезе миРНК молекула, миграције и ангиогенезе се разликује у зависности од типа узорака и клиничко-патолошких карактеристика.
- Нивои експресије протеина *PTEN* и *MMP9* се разликују у зависности од стадијума болести као и клиничко-патолошких карактеристика пацијената са карциномом ендометријума.
- Нивои експресије тестираних миРНК молекула (miR-200a, miR-21, miR-210, miR-126 и miR-130a) су у међусобној корелацији. Између нивоа експресије тестираних миРНК молекула и протеина (*PTEN* и *MMP9*) постоји међусобна корелација.
- МикроРНК и иРНК молекули, заједно са протеинима представљају потенцијалне тумор маркере и имају дијагностички значај у раном откривању карцинома ендометријума.

- Специфични полиморфизам (rs11614913) у гену за miR-196a2 је повезан са ризиком од развоја карцинома ендометријума.

Предложена докторска дисертација биће реализована по принципу комбинованог теоретског, експерименталног, биохемијског и статистичког приступа са следећим фазама рада:

- Претрага постојеће литературе о патофизиолошким процесима карцинома ендометријума, улози миРНК молекула код карцинома ендометријума и њиховом дијагностичким потенцијалу.
- Формирање модел система генома, транскриптома и протеома из карциномског ткива ендометријума и контролних ткива вршиће се изолацијом укупне РНК, протеина и геномске ДНК употребом ТРИzol реагенса или комерцијално доступних китова за изолацију у експерименталним, стерилним условима.
- Одређиваће се релативна експресија миРНК молекула (miR-200a, miR-21, miR-210, miR-126 и miR-130a) као и иРНК за *DICER1*, *AGO2*, *HIF1*, *VEGF* и *PTEN* гене у транскриптому из ткива карцинома ендометријума и контролних ткива. Методе реверзне транскрипције (енгл. *reverse transcription polymerase chain reaction* - RT-PCR) и квантитативне ланчане реакције полимеризације у реалном времену (енгл. *real-time quantitative PCR* - qPCR) користиће се за праћење релативне генске експресије циљаних гена у датом узорку.
- Одређиваће се експресија протеина PTEN и MMP9 ELISA (енгл. *enzyme-linked immunoassay*) методом.
- Амплификација гена за miR-196a2 PCR методом из укупно изоловане геномске ДНК карциномског и нормалног ткива. Након амплификације секвенце од интереса, умножена ДНК ће се третирати рестрикционим ензимом (MspI). RFLP (енгл. *Restriction Fragment Length Polymorphism*) метода користиће се за генотипизацију полиморфизма rs11614913 од интереса.
- Савремене статистичке методе ће се користити за обраду добијених резултата са циљем дефинисања дијагностичког потенцијала како појединачних маркера тако и њихових комбинација, тестирања корелације експресије миРНК молекула са експресијом њихових таргета, као и статистичке значајности добијених резултата.

С обзиром на то да не постоји адекватан скрининг тест за карцином ендометријума, неопходно је истражити нове специфичне тумор маркере који би могле открити ову болест у раној фази. **Главни циљ** ове докторске дисертације ће бити испитивање нивоа експресије и дијагностичког потенцијала миРНК (miR-200a, miR-21, miR-210, miR-126 и miR-130a), иРНК молекула за *DICER1*, *AGO2*, *HIF1*, *VEGF* и *PTEN* гене, као и протеина (PTEN и MMP9) са кључном улогом у малигној трансформацији карцинома ендометријума. **Додатни циљеви** истраживања обухватају анализу промене у експресији ових маркера у односу на клиничко-патолошке карактеристике пацијената с карциномом ендометријума, као и описивање међусобног односа између њих. Поред тога, циљ је испитати утицај полиморфизма (rs11614913) унутар гена за miR-196a2 на ризик од развоја карцинома ендометријума. Очекује се да анализа експресије поменутих маркера додатно разјасни њихову улогу у миграцији, инвазији и ангиогенези карцинома ендометријума.

Такође, испитивање експресије миРНК, иРНК и протеина између карциономских и контролних ткива може допринети идентификацији потенцијалног панела за детекцију карцинома ендометријума у његовом раном стадијуму. Испитивањем полиморфизма унутар гена за миРНК може се допринети повезивању одређеног полиморфизма са ризиком од развоја карцинома ендометријума.

Оквирни садржај докторске дисертације

Предложена докторска дисертација садржаће следећа поглавља: Увод, Циљ истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература.

У **Уводу** ће бити представљен преглед актуелних научних извора који истражују миРНК молекуле у контексту пацијената са карциномом ендометријума. Биће обухваћена њихова улога у патофизиолошким процесима ове болести, истичући потенцијал миРНК молекула у дијагностици карцинома ендометријума. Најпре ће се описати биолошка основа карцинома ендометријума, након чега ће бити описани молекуларни механизми биогенезе и улоге миРНК молекула, патофизиолошки механизми ћелија ендометријума пратећи циљане гене, њихове мутације и полиморфизме, затим улога миРНК (miR-200a, miR-210, miR-126, miR-21 и miR-130a) и иРНК које оне регулишу у инвазији, миграцији и ангиогенези карцинома ендометријума. Након тога ће бити приказани литературни подаци о до сада истраженим миРНК молекулама код карцинома ендометријума као и њиховом потенцијалу за детекцију различитих карцинома.

Након увода, биће дефинисани **циљеви истраживања**.

На основу литературних налаза, селектоваћемо одговарајуће методе за квантификацију миРНК, иРНК молекула и протеина, као и за извођење анализе полиморфизма ДНК молекула, што ће и бити приказано у поглављу **материјал и методе**. Детаљно ће бити описани критеријуми за селекцију, начин прикупљања и манипулација хуманим узорцима карцинома ендометријума и контролним узорцима. Методе за изолацију биомакромолекула, за испитивање експресије и квантификацију миРНК, иРНК молекула и протеина ће бити детаљно описане у овом поглављу, као и метода за детекцију полиморфизма на ДНК молекулу. У овом поглављу ће такође бити описане савремене статистичке методе које ће се користити за обраду добијених резултата.

Поглавље **резултати** садржаће табеларни и графички приказ статистички обрађених резултата. Првобитно ће бити приказани демографски подаци пацијената укључених у студију са циљем класификације ових података. Даље, биће приказани резултати о разликама у експресији тестираних маркера између узорака карцинома ендометријума и контролних узорака. Након тога ће се испитати експресија тестираних маркера у односу на клиничко-патолошке карактеристике оболелих пацијената. Поред наведеног, приказаће се ефекат селектованих маркера за детекцију карцинома ендометријума у његовом раном стадијуму, како појединачно тако и у њиховој комбинацији. Такође ће бити приказан утицај полиморфизма гена за miR-196a2 на ризик за развој карцинома ендометријума.

Добијени резултати ће бити детаљно образложени у поглављу **дискусија**, са упоредном анализом литературних података. На основу добијених резултата истраживања, биће изведени појединачни и општи **закључци**. Поглавље **литература** садржаће целокупан преглед литературе коришћене у докторској дисертацији.

3. Образложење теме за изradу докторске дисертације које омогућава закључак да је у питању оригинална идеја, или оригинални начин анализирања проблема

Анализа експресије миРНК молекула (miR-200a, miR-21, miR-210, miR-126 и miR-130a) и припадајућих циљних молекула иРНК, које ове миРНК регулишу, приноси дубљем разумевању молекуларних механизма миграције, инвазије и ангиогенезе код карцинома ендометријума. Пружање увида у експресију миРНК, иРНК молекула и протеина има значајан потенцијал за идентификацију нових дијагностичких и прогностичких маркера тумора. Праћење експресије наведених маркера у односу на клиничко-патолошке карактеристике пацијената са карциномом ендометријума пружа додатне увиде у ризик и омогућава развој нових приступа унапређењу клиничке праксе. Истраживање полиморфизма у генима за миРНК код пацијената са карциномом ендометријума и контролним узорцима доприноси детекцији и повезивању полиморфизма са појавом, током и исходом ове болести. Истраживање експресије миРНК и њихових регулаторних гена представља значајан аспект у проучавању повезаности миРНК и њихове улоге током миграције, инвазије и ангиогенезе код карцинома ендометријума, пружајући оригиналан приступ проучавању овог проблема.

На основу свега изнетог, закључујемо да је предложена тема „Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума" кандидата Стефана Благојевића оригинална научно-истраживачка идеја и да је предложен адекватан научни начин рада и анализирање проблема. Очекивани резултати могу бити научно верификовани и публиковани у међународним научним часописима и на научним скуповима.

4. Усклађеност дефиниције предмета истраживања, основних појмова, предложене хипотезе, извора података и метода анализе са критеријумима науке уз поштовање научних принципа у изradi коначне верзије докторске дисертације

Кандидат Стефан Благојевић ће обухватити све елементе савременог научноистраживачког рада у току изrade своје докторске дисертације. Увидом у актуелну литературу, кандидат ће потврдити тачност својих хипотеза и поставити циљеве, изабрати адекватну методологију у истраживању и статистичку обраду резултата. Поштујући основне критеријуме науке и научних принципа, допринеће развоју научних идеја у области докторске дисертације. Научни допринос предложене докторске дисертације темељи се на актуелним истраживањима и унапредиће сазнања о експресији миРНК и њихових регулаторних гена који су укључени у процесе миграције, инвазије и ангиогенезе у карциному ендометријума. Резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације потенцијално би допринели дијагностици и разумевању молекуларних механизма ове болести. Резултати би нашли потенцијалну примену у клиничкој пракси, развоју нових циљаних терапија и побољшању успешности лечења карцинома ендометријума. Примена одговарајућег панела за детекцију била би кључна мера превенције. На овај начин, пацијент са тумором који није видљив на стандардним снимцима могао би бити идентификован у раном стадијуму коришћењем посебно дизајнираног молекуларног теста.

Имајући све горе наведено у виду, Комисија констатује да су изабрана тема, идеја, односно предмет истраживања и полазне хипотезе оригинални, добро постављени, актуелни и адекватно усаглашени са одабраним методама научног рада, и да ће омогућити да зацртани циљеви истраживања буду остварени.

5. Предложени коментори за израду докторске дисертације

Институт за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу је предложио, а ННВ Факултета одобрило да коментори ове докторске дисертације буду др Данијела Цветковић, доцент и др Милена Милутиновић, доцент.

Доц. др Данијела Цветковић се бави истраживањима из уже научна области Хумана генетика. Доц. др Данијела Цветковић има преко 80 библиографских јединица, укључујући преко 25 радова у међународно признатим научним часописима, и преко 242 хетероцитата. Основни фокус њених истраживања се састоји у разматрању молекуларних механизма настанка и напредовања карцинома дојке, развоју метода детекције тумор маркера, као и преклиничким испитивањима потенцијално биолошки активних супстанци природног порекла. Била је члан 4 комисија за оцену пријаве и 2 за оцену и одбрану докторских дисертација.

Доцент др Милена Милутиновић има дугогодишње научно-истраживачко искуство у ужој научној области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија на Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу. У фокусу њених истраживања јесу испитивања антитуморске активности биоактивних супстанци, укључујући молекуларне механизме апоптозе, миграције, ангиогенезе, развоја резистенције туморских ћелија, као и редокс зависну модулацију ових процеса. Доц. др Милена Милутиновић има преко 100 библиографских јединица, од чега је преко 40 радова публикованих у међународно признатим научним часописима, преко 600 хетероцитата и Хиршов индекс 16. Била је члан 5 комисија за оцену пријаве, 2 комисије за оцену и одбрану докторских дисертација и ментор је једне одбрањене докторске дисертације.

Имајући у виду поље истраживања предложених коментора, као и циљеве и очекиване резултате ове докторске дисертације, закључујемо да доц. др **Данијела Цветковић** и доц. др **Милена Милутиновић** **испуњавају све услове** предвиђене Законом и одговарајућим Правилником Универзитета у Крагујевцу **за коменторство** докторске дисертације под насловом „Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума“, кандидата Стефана Благојевића.

6. Научна област докторске дисертације

Предложена тема докторске дисертације „Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума“ припада научној области Биологија, ужој научној области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија.

7. Научна област чланова комисије

Чланови комисије се баве истраживањима из области Биологија (сва три члана) и имају публиковане радове у реномираним међународним научним часописима. Др Данијела Цветковић је доцент на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу; ужа научна област - Хумана генетика. Др Милена Милутиновић је доцент на Природно-математичком факултету, Универзитета у Крагујевцу; ужа научна област - Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија. Др Зорана Добријевић је виши научни сарадник на Институту за примену нуклеарне енергије, Универзитета у Београду; научна област Биологија.

8. Кратка биографија кандидата

Стефан (име оца Зоран) **Благојевић** је рођен 5. августа 1993. године, у Крагујевцу. Основну школу „Мирко Јовановић“ је завршио 2008. године у Крагујевцу. Средњу школу „Друга крагујевачка гимназија“ завршио је 2012. године. Исте године је уписао основне академске студије биологије у Институту за биологију и екологију (ИБЕ), Природно-математичког факултета (ПМФ), Универзитета у Крагујевцу (УН КГ), које је завршио 2016. године са просечном оценом 9,54. Мастер-академске студије Биологија – молекуларна биологија је уписао 2016. године на ИБЕ, ПМФ, УН КГ. Током студентске мобилности у оквиру ERASMUS+ CREDIT MOBILITY програма, који је реализован у периоду од 05.02.2017. до 30.06.2017. године на факултету за Биологију и Заштиту животне средине, Универзитета у Лођу (Пољска), положио је све испите (*Cancer epigenetics, Cell cycle apoptosis and cancer, DNA damage and repair, Genetics and genomics in Medicine, Fluorescence and fluorescence probes in biological research, Epigenetics and Lifestyle*). Завршни рад под насловом „Статистичко груписање IC₅₀ вредности као показатеља цитотоксичности биоактивних супстанци на НСТ-116 и SW-480 ћелијским линијама карцинома колона”, одбранио је са оценом 10 (29. септембра 2017.) и стекао академско звање Мастер биолог-молекуларни биолог са укупном просечном оценом 9,89. Исте године је уписао прву годину Докторских академских студија Биологије у ИБЕ, ПМФ, УН КГ.

У звању истраживач приправник (2018-2021, број одлуке 400/XII-2), започео је научно-истраживачки рад у Лабораторији за ћелијску и молекуларну биологију (Лабораторија) ИБЕ, ПМФ, УН КГ, ангажован је на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије "Преклиничка испитивања биоактивних супстанци - ПИБАС" (Ев.бр. ИИИ41010; руководилац Пројекта доц. др Снежана Марковић), и запослен на ПМФ-у (Пројекат ИИИ41010 закључно са 2019.; по Уговору о реализацији и финансирању научно-истраживачког рада НИО-ПМФ од 2020. године).

Стефан Благојевић је едукован у ужој научној области Физиологија животиња, човека и молекуларна биологија. Положио је три уско стручна предмета (Молекуларна биологија еукариотске ћелије, Молекуларна физиологија и Молекуларна биологија малигне ћелије). Кроз шест студијско-истраживачких предмета (Истраживачки рад 1-4, Докторска дисертација-студијско истраживање 1, 2) дефинисао је оквире научноистраживачког рада.

Научно истраживачки рад

Стручна и научна усавршавања:

- Током фебруара 2019. год. похађао је обуку за оптимизацију услова PCR амплификације на Природно-математичком факултету у Крагујевцу. Реализатор обуке: др Јелене Ракобрадовић.
- У марту 2019. год. похађао је дводневну обуку за секвенцирање по Сангеру укупног ДНК узорка хуманог, биљног и животињског порекла на Ветеринарском Специјалистичком Институту у Краљеву. Реализатор обуке: Др Дејан Видановић.
- У септембру 2019. год је био полазник у I напредној петничкој школи молекуларне биологије под називом „Квантитативни PCR“ у Истраживачкој станици Петница.
- У октобру 2019. године учествовао је у биоинформатичкој радионици која је реализована у сарадњи компаније „Seven Bridges Genomics“ и Института за информационе технологије.
- На X конференцији биохемијског друштва Србије, која је одржана у Крагујевцу 24. септембра 2022. године, Стефан Благојевић је награђен трећим местом у постер секцији за рад под насловом „Утицај комплекса злато(III) и рутенијум(II) на експресију микроРНК укључених у процес метастазе на примарној култури ћелија оваријума изолованих из асцита.

Наставне активности

Стефан Благојевић је активно учествовао у експерименталном раду мастер студената Биологије-молекуларна биологија, који су у Лабораторији радили завршне радове из области Физиологије животиња, човека и молекуларне биологије.

Од школске 2022/2023 ангажован је као сарадник у настави на одржавању практичне наставе на предмету Молекуларна биологија при мастер академским студијама Молекуларна биологија и физиологија. У школској 2023/24 години поверена му је практична настава на предмету Основи молекуларне биологије на основним академским студијама Биологије. Активно се бавио унапређењу и креирању нових практичних вежби. Активно се бави промоцијом Факултета, као и промоцији и популаризацији науке као представник Лабораторије, ИБЕ и ПМФ, на различитим манифестацијама попут „Ноћ истраживача“, „Ноћ музеја“ и „Фестивал науке“.

9. Преглед научно-истраживачког рада кандидата

Кандидат Стефан Благојевић се бави научно-истраживачким радом у области физиологија животиња, човека и молекуларна биологија, пре свега истраживањем у домену тестирања антитуморског ефекта биоактивних супстанци, као и испитивању иРНК, миРНК молекула, протеина и полиморфизама у циљу дефинисања потенцијалних тумор маркера код карцинома ендометријума.

Од 2021 године, Стефан Благојевић се бави испитивањем експресије миРНК, иРНК молекула и протеина код пацијената са карциномом ендометријума у циљу дефинисања потенцијалних тумор маркера у сарадњи са др Данијелом Цветковић. Научно-истраживачки рад у оквиру израде докторске дисертације, Стефан Благојевић ће реализовати у Лабораторији

за ћелијску и молекуларну биологију, ИБЕ, ПМФ, УН КГ. У оквиру експерименталног дела научноистраживачког рада, Стефан Благојевић је овладао савременим техникама и методама ћелијске и молекуларне биологије и укључио се у експериментална истраживања у области:

- *In vitro* тестирање цитотоксичног ефекта биоактивних супстанци на имортализованим ћелијским линијама МТТ методом; Одређивање типа ћелијске смрти Акридин оранж-Етидијум бромид (АО-ЕБ) микроскопском методом на имортализованим ћелијским линијама.
- Биоинформатичка и статистичка обрада резултата тестирања цитотоксичних ефеката биоактивних супстанци.
- Испитивање протеинске експресије имуноцитофлуоресцентном микроскопијом на имортализованим ћелијским линијама, као и квантификацију протеина од интереса спектрафотометријским методама.
- Испитивање експресије иРНК и миРНК молекула PCR методом у реалном времену из ткива и ћелијских линија.
- Амплификација циљаних ДНК секвенци Multiplex PCR методом из хуманих, биљних, животиљских узорака.
- Секвенцирање циљаних ДНК секвенци методом по Сангеру и биоинформатичка обрада резултата секвенцирања применом Chromas Lite и Мегаб софтвера у циљу дефинисања полиморфизама и одређивања хаплогрупа њиховом имплементацијом са различитим геномским базама попут NCBI, Blast и MITOMASTER.

У оквиру Лабораторије савладао је методе рада, планирања и извођења експеримента, као и обраде и презентовања резултата истраживања. Члан је Српског биолошког друштва „Стеван Јаковљевић“, Биохемијског друштва Србије и Српског друштва за молекуларну биологију.

Библиографија

У току свог научноистраживачког рада, Стефан Благојевић је публикувао укупно 22 библиографске јединице: Два рада у међународним часописима (M21 и M22), четири рада у националним часописима међународног значаја (M24), једно саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33), осам саопштења на међународном скупу штампана у изводу (M34) и седам саопштења са скупа националног значаја штампано у изводу (M64).

Рађ објављен у врхунском међународном часопису (M21):

1. **Blagojević, S.**, Andrić, B., Jovankić, J., Milutinović, M., Nikodijević, D., Arsenijević, P., Cvetković, D. (2023): MicroRNA expression as a diagnostic parameter in early endometrial cancer. *International Journal of Gynecological Cancer* 33(9): 1394-1401.

IF₂₀₂₂: 4.8

ISSN: 1048-891X

DOI: 10.1136/ijgc-2023-004579

Рађ објављен у истакнутом међународном часопису (M22):

1. Medjedović, M., Simović, A., Ćoćić, D., Milutinović, M., Senft, L., **Blagojević, S.**, Milivojević, N., Petrović, B.. (2020): Dinuclear ruthenium(II) polypyridyl complexes: Mechanistic study with biomolecules, DNA/BSA interactions and cytotoxic activity. *Polyhedron*, 178: 114334.

IF₂₀₂₀: 3.052

ISSN: 0277-5387

DOI: 10.1016/j.poly.2019.114334

Рађови објављени у националним часописима међународног значаја (M24):

1. Jovankić, J.V., Nikodijević, D.D., **Blagojević, S.Z.**, Radenković, N.M., Jakovljević, D.Z., Grbović, F.J., Cvetković, D.M. (2022): The biological activity of *Ocimum minimum* L. flowers on redox status parameters in HCT-116 colorectal carcinoma cells. *Kragujevac Journal of Science* 44: 155–168.

ISSN: 1450-9636

UDC 57.083.36:616.34-006:582.943.11

DOI: 10.5937/KgJSci2244155J

2. Arsenijević, D.D., **Blagojević, S.Z.**, Planojević, N.S., Nikezić, A.G., Vidanović, D.S., Milosavljević, N., Marković, S.D. (2021): DNA-based molecular identification of *Urnula mediterranea* (Ascomycota, Pezizales) collected in central Serbia. *Kragujevac Journal of Science* 43: 53-62.

ISSN: 1450-9636

UDC 577.21:582.282:(497.11)

DOI: 10.5937/KgJSci2143053A

3. **Blagojević, S.Z.**, Cvjetković, V.M., Nikezić, A.G., Milutinović, M.G., Marković, S.D. (2020): Bioinformatics online support for bioactive substances cytotoxicity testing and their statistical analysis. *Kragujevac Journal of Science* 42: 55-72.

ISSN: 1450-9636

UDC 004.658.2:577.1/.2

DOI: 10.5937/KgJSci2042055B

4. Nikezić, A.G., **Blagojević, S.Z.**, Ćupurdija, M.Đ., Planojević, N.S., Jovankić, J.V., Rakobradović, J.D., Vidanović, D.S., Arsenijević, D.D., Marković, S.D. (2020): Comparative analysis of human DNA extraction methods and mitochondrial DNA HV1 and HV2 haplogroup determination. *Kragujevac Journal of Science* 42: 73-83.

ISSN: 1450-9636

UDC 577.2.086/.087

DOI: 10.5937/KgJSci2042073N

Саопштења са међународних скупова штампана у целини (M33):

1. Muškinja, J., Ratković, Z., Milutinović, M., **Blagojević, S.**, Novaković, S.B., Bogdanović, G.A., Matić S. *In vitro* DNA protective potential of selected ferrocenyl N-acyl pyrazolines, in Proceedings of the 9th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, 1–30. 11. 2023, MDPI: Basel, Switzerland.

DOI: 10.3390/ECMC2023-15643

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34):

1. Radenković, N., Milutinović, M., Nikodijević, D., Jovankić, J., **Blagojević, S.**, Jurišić, V., Predojević, D., Vukajlović, F., Pešić, S. (2023): Silk of Indian meal moth induces apoptosis of SW-480 colorectal cancer cells. Serbian Biochemical Society Twelfth Conference „Biochemistry in Biotechnology”, Belgrade, Serbia. 21-23. 09. 2023, pp. 135.

ISBN: 978-86-7220-140-6 (FOC)

2. **Blagojević, S.**, Planojević, N., Nikezić, A., Milutinović, M., Jovankić, J., Arsenijević, D., Radisavljević, S., Međedović, M., Petrović, B., Arsenijević, P., Jović, N., Mujković, S., Marković, S. (2022): Impact of gold(III) and ruthenium(II) complexes on miRNA expression involved in metastasis on primary ovarian cell culture isolated from ascites. 10th Conference of Serbian Biochemical Society “Biochemical Insights into Molecular Mechanisms”, Kragujevac, Serbia, 24. 09. 2021, pp. 52.

ISBN 978-86-7220-108-6 (FOC)

3. Nikezić, A., Jovankić, J., Nikodijević, D., Milutinović, M., **Blagojević, S.**, Planojević, N., Grbović, F., Marković, S. (2021): Anticancer potential of *Alchemilla vulgaris* L. on triple negative breast cancer cell lines. 10th Conference of Serbian Biochemical Society “Biochemical Insights into Molecular Mechanisms”, Kragujevac, Serbia, 24. 09. 2021, pp. 110.

ISBN 978-86-7220-108-6 (FOC)

4. Planojević, N., **Blagojević, S.**, Nikezić, A., Milutinović, M., Jovankić, J., Radenković, N., Radisavljević, S., Međedović, M., Petrović, B., Arsenijević, P., Jović, N., Mujković, S., Marković, S. (2021): The influence of newly synthesized Au(III) and Ru(II) complexes on gene expression on primary ovarian cancer cell culture from ascites. 10th Conference of Serbian Biochemical Society "Biochemical Insights into Molecular Mechanisms", Kragujevac, Serbia, 24. 09. 2021, pp.128.
ISBN 978-86-7220-108-6 (FOC)
5. Nikezić, A., **Blagojević, S.**, Planojević, N., Čupurdija, M., Jovankić, J., Cvetković, D., Veličković, T., Simić, V., Marković, S.D. (2019): Comparative analysis of DNA extraction methods from human buccal swabs and fish tissue samples. 9th Conference of Serbian Biochemical Society "Diversity of Biochemistry". Belgrade, Serbia 14-16. 10. 2019, pp. 140.
ISBN: 987-86-7220-101-7
6. Čupurdija, M., Planojević, N., **Blagojević, S.**, Nikezić, A., Jovankić, J., Milutinović, M., Lazović, M., Grbović, F., Marković, S.D. (2019): Comparative study of different DNA isolation methods from plants and fungus. 9th Conference of Serbian Biochemical Society "Diversity of Biochemistry", Belgrade, Serbia, 14-16. 10. 2019, pp. 83.
ISBN: 987-86-7220-101-7
7. **Blagojević, S.**, Milutinović, M., Milivojević, N., Živanović, M., Marković, S. (2018): Cytotoxic and proapoptotic effects of extracts from *Vitis vinifera* L. petiole on colon cancer cell lines. 8th Conference of Serbian Biochemical Society "Coordination in Biochemistry and Life", Novi Sad, Serbia, 16. 10. 2018, pp. 117.
ISBN: 978-86-7220-096-6
8. **Blagojević, S.Z.**, Furtula, B., Nikezić, A.G., Milutinović, M.G., Živanović, M.N., Marković, S.D. (2017): Statistical clustering of IC50 values as indicators of cytotoxicity of bioactive substances on HCT-116 and SW-480 cell line on colon cancer. 7th Conference of Serbian Biochemical Society "Biochemistry of Control in Life and Technology", Belgrade, Serbia, 10. 10. 2017, pp. 129.
ISBN: 978-86-7220-091-1

Саопштење са скупа националног значаја штампано у изводу (M64):

1. **Blagojević, S.**, Jovankić, J., Andrić, B., Milutinović, M., Nikodijević, D., Milojević, S., Radenković, N., Arsenijević, P., Cvetković, D. MIR200A and MIR210 as potential markers in detection of endometrial adenocarcinomas. CoMBoS2 - 2nd Congress of Molecular Biologists of Serbia, Belgrade, Serbia. 06-08. 10. 2023. pp. 54.
ISBN: 978-86-7078-173-3
2. Radenković, N., Nikodijević, D., Jovankić, J., **Blagojević, S.**, Milutinović, M. Isorhamnetin - Antitumor potential and impact on drug resistance in colorectal carcinoma cell lines. CoMBoS2 - 2nd Congress of Molecular Biologists of Serbia, Belgrade, Serbia. 06-08. 10. 2023. pp. 145.
ISBN 978-86-7078-173-3
3. Jovankić, J., Nikodijević, D., Milutinović, M., **Blagojević, S.**, Radenković, N., Cvetković, D. Imbalance in redox homeostasis induced by Orlistat in breast cancer cells. CoMBoS2 - 2nd Congress of Molecular Biologists of Serbia, Belgrade, Serbia. 06-08. 10. 2023. pp. 150.

ISBN 978-86-7078-173-3

4. **Blagojević, S.**, Jovankić, J., Andrić, B., Milutinović, M., Nikodijević, D., Milojević, S., Radenković, N., Arsenijević, P., Cvetković, D. (2023): Dijagnostički značaj mikroRNK-126 u ranom stadijumu adenokarcinoma endometrijskog. Prva konferencija Srpskog biološkog društva „Stevan Jakovljević”, Kragujevac, Srbija 20-22. 09. 2023. pp.102.

ISBN 978-86-905643-4-7

5. Jovankić, J., Milutinović, M., **Blagojević, S.**, Nikodijević, D., Radenković, N., Cvetković, D. (2023): Efekat *Ocimum minimum* L. na koncentraciju lipida u MDA-MB-468 ćelijama karcinoma dojke. Prva konferencija Srpskog biološkog društva „Stevan Jakovljević”, Kragujevac, Srbija 20-22. 09. 2023. pp.103.

ISBN 978-86-905643-4-7

6. Jovankić, J.V., Nikodijević, D.D., Milutinović, M.G., Nikezić, A.G., Planojević, N.P., **Blagojević, S.Z.**, Cvetković, D.M. (2021): Anti-obesity drug Orlistat (Xenical®) induces antiangiogenic potential in breast cancer cell lines. The 5th Congress of the Serbian Association for Cancer Research with international participation „Translational potential of cancer research in Serbia“, Virtual event, Belgrade, Serbia, 03. 12. 2021, pp. 53.

ISBN: 987-86-919183-3-0

7. Nikodijević, D., Jovankić, J., Cvetković, D., Nikezić, A., **Blagojević, S.**, Planojević, N., Milutinović, M. (2021): Bee venom and melittin induce apoptosis in colon cancer cell lines by Caspase 8 activation. The 5th Congress of the Serbian Association for Cancer Research with international participation „Translational potential of cancer research in Serbia“, Virtual event, Belgrade, Serbia, 03. 12. 2021, pp. 75.

ISBN 978-86-919183-3-0

ЗАКЉУЧАК

На основу анализе предложених циљева истраживања, концепта рада, постављених хипотеза, избора методологије и очекиваних резултата Комисија сматра да је предложена тема за израду докторске дисертације заснована на савременим научним сазнањима, као и да ће реализација истраживања у оквиру ове теме представљати значајан допринос развоју области, дијагностици и терапији карцинома ендометријума. Сматрајући да постоје сви релевантни предуслови да се предложена истраживања квалитетно реализују, уз поштовање принципа професионалне и научне етике, Комисија закључује да је тема докторске дисертације **„Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума„**, актуелна и научно заснована, а кандидат **Стефан Благојевић** испуњава све услове за научно-истраживачки рад и реализацију предложене докторске дисертације, у складу са Законом и одговарајућим Правилником Универзитета. За **коменторе докторске дисертације**, Комисија предлаже **др Данијелу Цветковић**, доцента на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу и **др Милену Милутиновић**, доцента на Природно-математичком факултету, Универзитета у Крагујевцу.

На основу свега изнетог, Комисија предлаже Наставно-научном већу Природно-математичког факултета и Већу за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу да позитивно оцене подобност кандидата **Стефана Благојевића** и научну заснованост теме, и одобре му израду докторске дисертације под насловом **„Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума“**, под коменторством доц. др Данијеле Цветковић и доц. др Милене Милутиновић.

У Крагујевцу, 27.11.2023.

КОМИСИЈА

Данијела Цветковић

др Данијела Цветковић, доцент, председник Комисије
Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Хумана генетика

Милене Милутиновић

др Милене Милутиновић, доцент, члан Комисије
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија

Зорана Добријевић

др Зорана Добријевић, виши научни сарадник, члан Комисије
Институт за примену нуклеарне енергије, Универзитет у Београду
научна област: Биологија

Већу катедре Института за биологију и екологију
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу

Предмет: Мишљење руководиоца ДАСБ о Извештају Комисије за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата и коментора

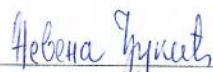
На основу Извештаја Комисије за оцену научне заснованости теме и испуњености услова студента ДАС Биологије, **Стефана Благојевића**, и коментора доцент др **Данијеле Цветковић** и доцент др **Милене Милутиновић**, дајем следеће мишљење:

Комисија је у предвиђеном року од 30 дана према Правилнику Универзитета, поднела Извештај о испуњености услова кандидата Стефана Благојевића, о научној заснованости теме „**Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума**“. Детаљно је анализиран научни приступ и дата процена научног доприноса крајњег исхода рада, образложен је предмет, методе и циљеви, образложена тема и усклађеност: предмета истраживања, предложене хипотезе, извора података, метода анализе - са критеријумима науке, уз поштовање научних принципа за израду докторске дисертације. У Извештају је приказана кратка биографија и библиографија кандидата. Комисија је предложила **коменторе** за израду докторске дисертације: др **Данијелу Цветковић**, доцента на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, научна област: Биолошке науке, ужа научна област: Хумана генетика и **коментора др Милену Милутиновић**, доцента у Институту за биологију и екологију ПМФ-а, Универзитета у Крагујевцу, научна област: Биологија, ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија. Предложени коментори су одговарајући и компетенти.

Закључујем да је Извештај комплетан и да су у погледу заснованости теме, подобности кандидата и предложених коментора **испуњени сви услови, према важећим правним документима** Универзитета и Факултета.

У Крагујевцу,
29. 11. 2023. године

Руководилац ДАС Биологије


др Невена Ђукић, редовни професор