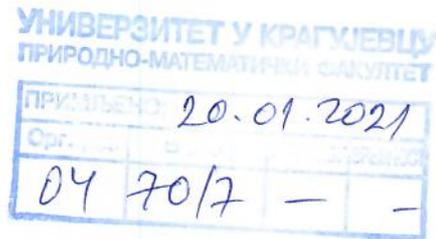


Институција за биолошку и молекуларну биологију
ЈИ - Свјетлост

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ



ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

На седници Наставно-научног већа Природно-математичког факултета, Универзитета у Крагујевцу одржаној 25.11.2020. године (број одлуке 540/XIII-2) и на седници Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу одржаној 09.12.2020. године (број одлуке IV-01-920/11), формирана је Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата **Невене С. Планојевић** и предложеног ментора за израду докторске дисертације под називом: „Полиморфизми и експресија *CYP1* и *GSTP* гена као молекуларни маркери малигне трансформације хуманих тумора јајника и механизма биотрансформације нових терапеутика у примарним културама ћелија“, у следећем саставу:

- 1) Др Наташа З. Ђорђевић, ванредни професор; **председник Комисије**
Департман за биомедицинске науке, Државни универзитет у Новом Пазару
Ужа научна област: Биологија;
- 2) Др Снежана Д. Марковић, доцент; **предложени ментор**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија;
- 3) Др Емина Ј. Малишић, виши научни сарадник; **члан Комисије**
Институт за онкологију и радиологију Србије
Научна област: Медицинске науке; ужа научна област: Онкологија.

На основу података којима располажемо достављамо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Научни приступ проблему предложеног нацрта докторске дисертације и процена научног доприноса крајњег исхода рада.

Према статистици за 2018. годину, World Cancer Research Found (American Institute for Cancer Research) сврстава малигни тумор јајника као 18. по учесталости од свих малигнух тумора независно од пола, док је 8. по учесталости код жена у свету. Према овој статистици, Србија се налази на 1. месту по инциденци настанка малигнух тумора јајника са 16,6 оболелих на 100.000, а одмах иза ње су Брунеји, Белорусија и Пољска. Global Cancer Observatory (International Agency for Research on Cancer, WHO) је објавила да је у 2020. години у свету пријављено 313.956 нових случајева малигнух тумора јајника, док су од ове болести преминуле 207.252 жене. Према изнетим подацима, тумори јајника представљају актуелно поље истраживања.

Малигни тумори јајника су један од три најчешћа гинеколошка канцера, и по учесталости се налази одмах иза рака грлића материце и рака материце. У односу на ова два гинеколошка канцера има много већу стопу

смртности и најлошију прогнозу. Епителни малигни тумори (карциноми) потичу од површног епитела (мезотела) јајника или кортикалних инвагинација површног епитела. Данас не постоји довољно специфични скрининг тест за малигне туморе јајника, а већина утврђених фактора ризика за развој малигнитета (позитивна породична анамнеза, рана менарха, касна менопауза, пацијенткиње које нису рађале и дојиле, и сл.) нису примењиви на нивоу популације. Сходно томе, испитивање и дефинисање молекуларних маркера који специфично дефинишу тип малигну тумора јајника од круцијалног је значаја за превенцију, дијагностику и терапију ове болести.

Могућност прикупљања узорака ткива и асцита тумора јајника доприноси развијању индивидуалног приступа болести. Формирање биобанки ткива малигну тумора јајника омогућава трајно похрањивање и доступност материјала за истраживања, доступност података о свим испитивањима и резултатима добијеним на ткиву, уз очување и заштиту поверљивости података пацијената. Биобанке омогућају трајно чување фрагмената ткива у *in vitro* условима, уз очување међућелијских веза какве постоје *in vivo*. Из узорака биобанки ткива малигну тумора јајника, изолацијом геномске ДНК, укупне РНК, протеина, могуће је формирати биобанке генома, транскриптома, протеома, које такође омогућавају трајно похрањивање и доступност материјала за анализе и истраживања у циљу испитивања етиологије малигну тумора, дефинисања молекуларних тумор маркера, дијагностике и ефеката терапије.

Биотрансформација је физиолошки процес који има протективну улогу у ћелијама приликом контакта са штетним материјама (ксенобиотицима). Малигне ћелије примењују овај процес у борби против лекова који се користе у терапији. Биотрансформација се састоји из три фазе у којима се налазе кључни ензими (1) CYP450 (енгл. *Cytochrome P450*), (2) GST (енгл. *Glutation-S-transferase*) и (3) ABC транспортери (MRP). Улога нормалног CYP ензима (енгл. *wilde type CYP*, *wtCYP*) јесте у обради ксенобиотика до његове хидрофилности. Гени који кодирају ензиме прве фазе, пре свега CYP1 фамилија, изузетно су полиморфни. Различити полиморфизми ових гена могу утицати на активност ензима због промењеног редоследа нуклеотида у кодону услед адисија, дупликација, делеција, SNP (енгл. *Single Nucleotide Polymorphisms*). Експресију CYP1 генске фамилије контролише AhR (енгл. *Aryl hydrocarbon Receptor*). Овај транскрипциони фактор се у инактивном облику налази у цитоплазми у комплексу са шаперонима (Hsp90), простагландин Е синтетазом 3 (p23) и AhR интерагујућим протеином (AIP). Када се веже лиганд за AhR, комплекс се транслоцира у нуклеус где дисосује, а AhR димеризује са ARNT (енгл. *Aryl hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator*) и доводи до експресије гена CYP1 фамилије. У другој фази долази до смањења токсичности ксенобиотика коњугацијом са глутатионом, посредством глутатион S-трансферазе. GST суперфамилија има 8 изоензима. GSTP фамилија је полиморфна и експримира се углавном код високопролиферишућих ћелија, па се често јавља код тумора. Како је овај ген доведен у корелацију са многим малигним болестима и са резистенцијом на лекове, у фокусу је многих истраживања. Трећа фаза представља елиминацију ксенобиотика преко ABC транспортера (MRP фамилија) чији су супстрат само ксенобиотици коњуговани са глутатионом. Анализа полиморфизама CYP1 и GSTP фамилије гена, чији су протеински производи укључени у биотрансформацију лекова, на нивоу генома и транскриптома изолованих из хуманих ткива тумора јајника, значајно доприноси разумевању етиологије и класификацији типова тумора јајника, као и предиспозицији за специфичне и персонализоване терапије.

Стандардна терапија малигну тумора јајника обухвата хируршки захват у комбинацији са хемио- и радиотерапијом, што су радикалне мере које штете организму у целини. То представља један од главних разлога због чега се и даље трага за адекватнијим леком за ову болест. Злато је до сада показало значајан утицај на различитим туморима у преклиничким испитивањима. Новосинтетисани тринуклеарни комплекс злата (енгл. *trinuclear gold(III) complex*) има велики потенцијал у даљим истраживањима, са упоредном анализом ефеката цисплатине као позитивном контролом. У народној медицини, али и у многим истраживањима врсте рода *Teucrium* су показале многа лековита својства, те испитивање биолошког ефекта и утицај на туморске ћелије јајника може дати добре резултате, уз упоредну анализу ефеката паклитаксела (цитостатик изолован из биљака) као позитивне контроле. Многи новосинтетисани хемијски комплекси, као и активне супстанце биљног порекла, у досадашњим преклиничким истраживањима су тестирани на имортализованим ћелијским линијама и показали су потенцијал за даља испитивања. Наредни корак у

испитивањима биоактивних супстанци јесте дефинисање биолошких ефеката и молекуларних механизма деловања на примарним ћелијским културама, изоловане директно из ткива тумора јајника пацијенткиња, а које нису модификоване у циљу имортализације и чија је генетичка гарнитура очувана. Дати аспект се обрађује у Дисертацији, што јој даје на актуелности и унапређењу знања из области. Нови видови терапије као што су трансфекције које подразумевају увођење малих интерферирајућих РНК молекула са циљем инхибиције транслације иРНК за CYP1 протеине у котретману са већ наведеним третманима, предстаљају изазован и актуелан проблем који ће отворити многа нова научна питања. Истраживања у оквиру ове докторске дисертације могу се сагледати са два аспекта. У првом сегменту, истраживања ће бити фокусирана на анализу полиморфизама CYP1 и GSTP фамилије гена на нивоу генома, као и анализу генске експресије на нивоу транскриптома изолованих из ткива тумора оваријума. Други део дисертације представља истраживања која ће се спроводити на изолованим примарним културама ћелија. Фокус другог сегмента истраживања биће на праћењу утицаја третмана на AhR-зависни сигнални пут и регулацију експресије CYP1 фамилије, као и тестирање нестандартне терапије.

Веза са досадашњим истраживањем

Праћење полиморфизама CYP1 и GSTP фамилије гена код пацијенткиња са туморима оваријума је актуелно поље истраживања у свету, међутим, многа питања остају отворена. Малигна болест јајника не даје јасне симптоме, те су жене код којих се дијагностикује малигном најчешће неоперабилне. Ово је и разлог што све студије које се спровode имају релативно мали број узорака. Резултати испитивања полиморфизама код овог типа тумора, дали би значајан допринос научној заједници. Један од битних аспеката истраживања тумора јесте праћење њиховог одговора на различите био- и хемиотерапеутике. Многбројна *in vitro* истраживања прате активност ксенобиотика у различитим фазама биотрансформације на имортализованим ћелијским линијама. Испитивање механизма регулације биотрансформације на нивоу ензима прве фазе под утицајем нових третмана на примарним ћелијским линијама из тумора, и њихово поређење са цитостатикима који се већ користе у клиничкој терапији, од великог су значаја за утврђивање ефеката потенцијалних лекова.

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

Предмет докторске дисертације је испитивање полиморфизама CYP1 и GSTP1 фамилије гена на нивоу геномске ДНК хуманих ткива тумора јајника, као и анализа генске експресије на нивоу транскриптома. Успостављање примарне културе ћелија тумора јајника као модел система за испитивање утицаја новосинтетисаних комплекса злата и активних супстанци из врста рода *Teucrium* на AhR-зависни сигнални пут који регулише експресију гена за ензиме прве фазе биотрансформације (CYP1 фамилије гена). Увођење малих интерферирајућих РНК у ћелију као котретмана са већ наведеним хемио- и фитотерапеутицима.

Хипотезе докторске дисертације:

- Детаљна анализа (на основу литературних извора) молекуларних механизма малигних трансформација ћелија јајника омогућава боље разумевање бенигних и малигних тумора јајника, отвара веће могућности превенције, дијагнозе и терапије.
- Формирање биобанки ткива бенигних и малигних тумора јајника, узоркованих од пацијената на основу Студије одобрене од Етичког одбора КЦ Крагујевац, као и формирање биобанки генома и транскриптома, омогућава трајно похрањивање и доступност материјала за истраживања.
- Испитивање полиморфизама CYP1 и GSTP генских фамилија на нивоу генома тумора јајника, као и испитивање експресије CYP1 и GSTP гена на нивоу транскриптома (анализа иРНК), резултира дефинисањем молекуларних маркера тумора у циљу типизације тумора и фармакогенетичких предиспозиција за стандардне и нове видове терапије.

- Успостављање примарних култура ћелија из асцита и ткива бенигну и малигну тумора јајника омогућава идентификацију типа малигну трансформисаних ћелија, потенцијалну идентификацију матичне ћелије тумора, што доприноси дијагностици тумора јајника.
- Примарне културе ћелија обезбеђују нови модел систем за *in vitro* преклиничка испитивања антитуморског деловања биоактивних супстанци (стандардни и нови хемио- и фитотерапеутици), тестирања нових видова радиотерапије и трансфекције (интерференција РНК молекулама на нивоу експресије гена).
- Испитивања молекуларних аспеката *CYP1* и *GSTP* гена на нивоу полиморфизама (геномска ДНК), експресије гена и интерференције (транскриптом, иРНК), сигналних путева, протеинске експресије и ензимске активности (протеом), резултира дефинисањем механизма биотрансформације и антитуморског деловања стандардних и нових биоактивних супстанци (терапеутика) у примарним културама ћелија изолованим из бенигну и малигну трансформисаних јајника.

Циљ докторске дисертације је дефинисати молекуларне механизме малигне трансформације ћелија јајника, испитати полиморфизме и експресију *CYP1* и *GSTP* генских фамилија из ткива бенигну и малигну јајника жена као потенцијалних молекуларних маркера за типизацију тумора јајника, као и са аспекта молекуларних механизма биотрансформације стандардних и нових хемио- и фитотерапеутика у примарним културама ћелија изолованим из асцита и ткива тумора јајника жена.

Специфични циљеви:

А. Формирати биобанке генома и транскриптома из ткива бенигну и малигну трансформисаних јајника за анализу *CYP1* и *GSTP* генских фамилија са аспеката:

- Одређивања полиморфизама *CYP1* и *GSTP* генских фамилија у изолованој геномској ДНК и дефинисање тумор маркера у карактеризацији типа тумора и фармакогенетској предиспозицији за терапију.
- Испитивање експресије *CYP1* и *GSTP* фамилије гена на нивоу иРНК у изолованом транскриптому.

Б. Успоставити методологију изолације и култивације примарних култура ћелија из асцита и узорака ткива бенигну и малигну јајника жена, као модел систем за:

- Имуноцитофлуоресцентну детекцију типова ћелија у култури (нормалне, малигну трансформисане, матичне ћелије канцера), са потенцијалном применом у дијагностици тумора у оквиру патохистолошких анализа.
- Преклиничка *in vitro* испитивања молекуларних механизма биотрансформације и антиканцерогеног деловања стандардних и нових хемиотерапеутика и фитотерапеутика, затим експерименталне радиотерапије (електромагнетно поље), до нових видова генске терапије - трансфекције (РНК интерференција).

Пацијенти и методологија рада

Испитивања на ткиву пацијената са бенигну и малигну туморима јајника су део Студије академског карактера под називом „Испитивање молекуларних маркера малигну тумора јајника“, која је одобрена од стране Етичког одбора Клиничког центра у Крагујевцу (бр. 01-14-3042, 14.07.2019. године). Истраживање се обавља по типу контролисане клиничке експерименталне студије и спроводи на пацијенткињама код којих је дијагностикован малигну тумор јајника. Контролну групу чине пацијенткиње код којих је урађена хистеректомија због немалигну стања. У току хируршке интервенције, а уз добровољни пристанак пацијената (пацијенти су писмено и усмено информисани о свим детаљима Студије - потписан Информисани пристанак), лечећи гинеколог КЦ Крагујевац узима исечак туморског ткива јајника и асцита (слободна течност). Чување узорака ткива (на температури од -196 °C до извођења анализа) и даљи поступак са узорцима, као и формирање биобанке ткива, генома и транскриптома спроводи се у складу са принципима Европског истраживачког простора (Biobanks for Europe, 2012), а од стране истраживача

Лабораторије за ћелијску и молекуларну биологију, Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу. Планирано је извршити истраживања на узорцима ткива тумора јајника узоркованим од 30 пацијенткиња.

А. Модел систем геном и транскриптом изолован из ткива бенигно и малигно трансформисаних јајника

Формирање биобанки генома и транскриптома из ткива бенигно и малигно трансформисаних јајника: (а) изолација геномске ДНК комерцијалним китовима за изолацију укупне ДНК из узорака, (б) изолација укупне РНК тризол методом.

Анализе:

- 1) Амплификација *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* и *GSTP1* гена у геномској ДНК из ткива тумора. Multiplex PCR метода се користи за амплификацију циљаних генских секвенци, које се даље користе у испитивању полиморфизама гена.
- 2) Детекција полиморфизама *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* и *GSTP1* гена са циљем утврђивања SNP-ова (енгл. *Single Nucleotide Polymorphisms*), једном од следећих метода: (а) полиморфизам дужине рестрикционих фрагмената (енгл. *Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP); (б) TaqMan Real-time PCR анализа; (в) секвенцирање амплификованих гена *CYP1* и *GSTP* фамилије.
- 3) Одређивање експресије иРНК за *AhR*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* и *GSTP1* гене у транскриптому из ткива тумора јајника. Метода квантитативног PCR у реалном времену (енгл. *real-time quantitative PCR*) користи се за праћење релативне генске експресије циљаних гена и дефинисање потенцијалних тумор маркера у датом узорку.

Б. Модел систем примарне културе ћелија

Изолација примарних култура ћелија врши се: (а) из свежег ткива тумора, што подразумева ензимску дигестију колагена уз помоћ колагеназе II и механичко раздвајање уз помоћ стреинера; (б) из асцита - мешање асцита са медијумом за раст и њихову директну култивацију.

У третману примарних култура ћелија биће коришћени:

- цисплатина као стандардни хемиотерапеутик и новосинтетисани тринуклеарни комплекси злата (енгл. *trinuclear gold(III) complexes*).
- паклитаксел као стандардни фитотерапеутик и биљни екстракти изабраних врста из рода *Teucrium*.
- третман електромагнетним пољем различитог интензитета (125, 500... V/cm) у различитом временском интервалу.

Анализе:

- 1) Изоловање примарних култура ћелија из ткива и асцита тумора јајника, као и идентификација типа малигних ћелија, идентификација матичне ћелије тумора. Имуноцитофлуоресцентна микроскопска метода (*EpCAM* и *Vimentin*)
- 2) Дефинисање антиканцерогеног деловања испитиваних биоактивних супстанци и електромагнетног поља на примарној култури ћелија. Методе анализе цитотоксичности (Trypan Blue и MTT), одређивање нивоа редокс статуса (концентрације реактивних врста кисеоника, GSH).
- 4) Изолација геномске ДНК и утврђивање ефекта третмана на полиморфизме *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* и *GSTP1* гена у примарним културама ћелија тумора јајника. Изабрана метода: (а) полиморфизам дужине рестрикционих фрагмената - RFLP; (б) TaqMan Real-time PCR анализа; (в) секвенцирање амплификованих гена *CYP1* и *GSTP* фамилије.
- 3) Изолација укупне РНК и утврђивање ефекта третмана на експресију иРНК за *AhR*, *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* и *GSTP1* гене у примарним културама ћелија тумора јајника. Квантитативни PCR користи се за праћење релативне генске експресије циљаног гена.
- 4) Испитивање протеинске експресије и ензимске активности *CYP1* и *GST* протеина, који имају улогу у биотрансформацији биоактивних супстанци коришћених у третману примарних култура ћелија из тумора јајника и асцита. Методе за протеинску експресију (имуноцитофлуоресцентна

- микроскопија која се базира на флуоресцентној детекцији специфичних антитела која се везују за циљани протеин) и ензимску активност.
- 5) Испитивање нових видова нестандартне терапије - генска трансфекција употребом малих интерферирајућих РНК молекула са циљем инхибиције транслације иРНК за CYP1 протеине, и последично инхибиције биотрансформације унетог ксенобиотика (биоактивне супстанце). Генска трансфекција се ради китом за трансфекцију који је базиран на технологији липидних наночестица чија је улога уношење мале интерферирајуће РНК у ћелију.

Оквирни садржај докторске дисертације

Предложена докторска дисертација садржаће следећа поглавља:

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

Досадашња открића и актуелна истраживања која су у корелацији са темом докторске дисертације биће приказана у Уводу докторске дисертације. У овом поглављу кандидат ће предочити: [а] молекуларне механизме ембриогенезе јајника са посебним акцентом на нормално функционисање и улогу циљаних гена; [б] молекуларне механизме малигне трансформације ћелија јајника пратећи циљане гене, њихове мутације и полиморфизме, затим улогу CYP1 и GSTP1 фамилија гена у ћелијском циклусу и канцерогенези; [в] молекуларну биотехнологију тумора и малигнома јајника са освртом на значај примарне ћелијске културе у преклиничким испитивањима, затим на досадашњу примену генских трансфекција код тумора јајника, као и на досадашња открића везана за AhR-зависни сигнални пут у области фармакогенетике. Циљ истраживања биће концизно описан на основу хипотеза докторске дисертације. Начин коришћења хуманог материјала, материјал и методе коришћени за доказивање хипотеза истраживања биће детаљно описани у поглављу Материјал и методе истраживања. Поглавље Резултати садржаће табеларни и графички приказ статистички обрађених резултата. Добијени резултати ће бити детаљно образложени у поглављу Дискусија, где ће бити упоредо анализирани са досадашњим литературним подацима. На основу добијених резултата истраживања биће представљени појединачни и општи закључци. Поглавље Литература садржаће целокупан преглед литературе коришћене у докторској дисертацији

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

Полиморфизми и експресија CYP1 и GSTP фамилија гена у ткивима тумора јајника жена доприноси праћењу и повезивању полиморфизама са настанком, током и исходом малигне болести, као и персоналном предиспозицијом за одговор на терапију. Примарна ћелијска култура као модел систем је корак ближе индивидуализацији терапије што, између осталог, чини ову тему актуелном. Утицај нових хемио- и фитотерапеутика, као и нових видова терапије, на регулаторни AhR-зависни сигнални пут који регулише генску експресију CYP1 фамилије и ензима прве фазе биотрансформације, у примарним културама тумора јајника и асцита, значајно ће унапредити знања о механизмима биотрансформације цитостатика. На основу свега изнесеног, закључујемо да је предложена тема „Полиморфизми и експресија CYP1 и GSTP гена као молекуларни маркери малигне трансформације хуманих тумора јајника и механизма биотрансформације нових терапеутика у примарним културама ћелија" кандидата Невене Планојевић оригинална идеја. 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, метода анализе са критеријумима науке уз поштовање научних принципа у изради коначне верзије докторске дисертације.

Кандидат Невена Планојевић ће обухватити све елементе савременог научноистраживачког начина рада у току израде своје докторске дисертације. Увидом у актуелну литературу, кандидат ће потврдити тачност својих хипотеза и поставити циљеве, изабрати адекватну методологију у истраживању и статистичкој обради резултата, а поштујући основне критеријуме науке и научних принципа, допринеће развоју научних идеја у области докторске дисертације. Научни допринос ове докторске дисертације се базира на актуелним истраживањима и унапредиће сазнања о утицају полиморфизама CYP1 и GSTP фамилија гена у хуманим ткивима тумора јајника на развој и ток малигне трансформације, али и утицај нових хемио- и биоактивних супстанци, као и нових видова терапије на механизам биотрансформације у примарним културама ћелија тумора јајника и асцита. Употреба примарне ћелијске културе за тестирање супстанци које се користе у терапији малигне болести би имало велики допринос у дијагностици и индивидуализацији терапије.

5. Предложени ментор израде докторске дисертације.

За ментора докторске дисертације кандидата Невене Планојевић, Комисија предлаже др Снежану Марковић, доцента у Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета у Крагујевцу, ужа научна област Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија. Доц. др Снежана Марковић се активно бави научноистраживачким радом и аутор/коаутор је преко 65 научних радова (SCI листа; 1136 хетероцитата, χ индекс 15, извор SCOPUS) од значаја за развој научне мисли у оквиру Области. Од тога, преко 40 публикација су резултат испитивања биолошких ефеката и молекуларних механизма деловања биоактивних супстанци (хемијски синтетисаних и изолованих из природних материјала) на хуманим имортализованим ћелијским линијама канцера, као и разумевања молекуларних механизма малигнитета у хуманој популацији.

Доц. др Снежана Марковић се две деценије бави научно-наставним радом у областима Молекуларне биологије, биотехнологије и физиологије, а тренутно је наставник на 15 акредитованих предмета на свим нивоима студија. До сада је била ментор пет одбрањених докторских дисертација и преко 20 магистарских/ специјалистичких/ мастер/ дипломских радова из наведене научне области.

Имајући у виду циљеве и очекиване резултате ове докторске дисертације, као и поље истраживања предложеног ментора, Комисија сматра да доц. др Снежана Марковић испуњава Законом и одговарајућим Правилником Универзитета у Крагујевцу предвиђене услове да буде ментор предложене докторске дисертације.

6. Научна област докторске дисертације.

Предложена тема докторске дисертације припада научној области Биологија, а ужој научној области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија.

7. Научна област чланова комисије.

Ментор и предложени чланови комисије се баве научним радом у областима релевантним за тему предложене докторске дисертације. Сви чланови комисије имају већи број радова објављених у међународним научним часописима и завидно искуство у образовању научног подмлатка у својим институцијама.

Др Наташа З. Ђорђевић, ванредни професор на Департману за биомедицинске науке, Државни универзитет у Новом Пазару, ужа научна област: Биологија. Проф. др Наташа Ђорђевић се 14 година активно бави наставним и научноистраживачким радом у области Хумане и анималне физиологије. У оквиру научноистраживачког рада бави се проучавањем редокс хомеостазе и улоге оксидационог стреса у патофизиолошким процесима, као и испитивањем цитотоксичности биоактивних супстанци. Досадашње резултате истраживања публиковала је као аутор/коаутор у 20 научних радова (SCI листа; 127 хетероцитата, *h*-индекс 6, извор SCOPUS). У оквиру наставе ангажована је на 11 акредитованих предмета на свим нивоима студија. До сада је била ментор једне одбрањене докторске дисертација и 15 мастер радова из научне области Биологија.

Др Емина Ј. Малишић, виши научни сарадник Института за онкологију и радиологију Србије, научна област: Медицинске науке, ужа научна област: Онкологија. Интересовање др Емине Малишић је усмерено на истраживања у области молекуларне онкологије. Објавила је преко 20 научних радова. Посебни допринос дала је у изучавању гинеколошких малигнитета у циљу проналажења нових потенцијалних биомаркера за рану детекцију и персонализовани терапијски приступ. Истраживања су фокусирана на утврђивање учесталости и типа промена у онкогенима и тумор-супресорима у овим малигнитетима, пре свега мутација и полиморфних варијанти. Ментор је неколико мастер радова као и докторске дисертације која је у изради а везана је за утицај експресије гена укључених у епително-мезенхимску транзицију на метастатски потенцијал ћелија хуманог карцинома јајника. Наставник је на курсу Фармакогеномика у онкологији и предавач по позиву на курсевима модула Ћелијска и молекуларна онкологија, смер Биологија на докторским студијама Биолошког факултета Универзитета у Београду. Члан је и Већа докторских студија Биолошког факултета Универзитета у Београду.

8. Биографија кандидата са библиографијом.

Невена Планојевић је рођена 20. маја 1993. године у Крагујевцу. Основну школу „Мома Станојловић" и Средњу медицинску школу „Сестре Нинковић" у Крагујевцу завршила је са одличним успехом.

Основне академске студије Биологије уписала је школске 2012./2013. године у Институту за биологију и екологију (ИБЕ), Природно-математичког факултета (ПМФ) Универзитета у Крагујевцу (УН КГ), које је завршила 2016. године са просечном оценом 8,64 и стекла академско звање Дипломирани биолог. Исте године је уписала мастер академске студије Биологија – молекуларна биологија у ИБЕ, ПМФ, УН КГ. Завршни рад под насловом „Испитивање генотоксичног ефекта и фенолног састава метанолског екстракта врсте *Teucrium flavum* L.", ментор проф. др Оливера Милошевић-Ђорђевић, одбранила је са оценом 10 (28. септембра 2017.) и са укупном просечном оценом 9,67 стекла је академско звање Мастер биолог-молекуларни биолог. Исте године уписала је прву годину Докторских академских студија Биологије у ИБЕ, ПМФ, УН КГ.

У звању истраживач приправник (2018.-), започела је научноистраживачки рад у Лабораторији за ћелијску и молекуларну биологију (Лабораторија) ИБЕ, ПМФ, УН КГ, ангажована на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије "Преклиничка испитивања биоактивних супстанци - ПИБАС" (Ев.бр. ИИИ41010; руководилац Пројекта и Лабораторије је доц. др Снежана Марковић), најпре као стипендиста Министарства, а затим и запослена на ПМФ-у (Пројекат ИИИ41010 закључно са 2019., и по Уговору о реализацији и финасирању научноистраживачког рада НИО-ПМФ у 2020. години).

На докторским академским студијама Биологије, под менторством доц. др Снежане Марковић као изабраним наставником-саветником, Невена Планојевић је образована у ужој научној области Физиологија човека и молекуларна биологија. Положила је три уско стручна предмета (Молекуларна биологија еукариотске ћелије, Молекуларна физиологија и Молекуларна биологија малигне ћелије), а оквиру научноистраживачког рада је дефинисала кроз 6 студијско-истраживачка предмета (Истраживачки рад 1-4, Докторска дисертација-студијско истраживање 1, 2). Експериментални део научноистраживачког рада, Невена Планојевић реализује у Лабораторији, где је овладава савременим техникама и методама ћелијске и

молекуларне биологије, стекла је основна теоријска знања и укључила се у експериментална истраживања у областима: испитивања молекуларних механизма канцерогенезе; *in vitro* тестирања антиканцерогених ефеката биоактивних супстанци на имортализованим и примарним културама ћелија; молекуларна физиологија ћелије и сигнални путеви; геномика - испитивања ДНК порекла људи, молекуларне систематике биљака и дефинисања хаплотипова. У оквиру Лабораторије савладала је методе рада, планирања и извођења експеримента, као и обраде и презентовања резултата истраживања.

Стручна и научна усавршавања:

- Септембар 2018. године, полазник III Петничке школе молекуларне биологије „PCR у биолошким и биомедицинским истраживањима“, Истраживачка станица Петница, Ваљево.
- Фебруар 2019. године похађала је обуку за оптимизацију услова PCR амплификације на Природно-математичком факултету у Крагујевцу. Реализатор обуке: др Јелена Ракобровић, научни сарадник са Института за онкологију и радиологију Србије.
- Март 2019. године похађала је дводневну обуку за секвенцирање по Сангеру укупног ДНК узорка хуманог, биљног, животињског и миколошког порекла на Ветеринарском Специјалистичком Институту у Краљеву. Реализатор обуке: Др Дејан Видановић, виши научни сарадник ВСИ.
- Јул 2019. године била је на једнодневной обуци за изоловање и култивацију примарних ћелијских култура глиобластома на Институту за биолошка испитивања „Синиша Станковић“ у Београду. Реализатор обуке: Др Милица Пешић, научни саветник ИБИСС.
- Учествовала је у биоинформатичкој радионици која је реализована у октобру 2019. године у сарадњи компаније „Seven Bridges Genomics“ и Института за информационе технологије Универзитета у Крагујевцу.

У току научноистраживачког ангажовања, Невена Планојевић је координисала и учествовала у експерименталном раду мастер студената Биологије-молекуларна биологија, који су у Лабораторији радили завршне радове из области Физиологије животиња и човека и молекуларне биологије. Активна је учесница на манифестацијама „Ноћ истраживача“ и „Фестивал науке“ на којима је промовисала научни рад као преставник Лабораторије, ИБЕ и ПМФ.

Научноистраживачки рад у оквиру израде докторске дисертације, Невена Планојевић ће реализовати у Лабораторији за ћелијску и молекуларну биологију, ИБЕ, ПМФ, УН КГ.

Библиографија

У току свог научноистраживачког рада, Невена Планојевић је публиковала укупно 7 библиографских јединица: четири *in extenso* рада - три у међународним часописима са SCI листе (1-M21, 2-M22) и један рад у националном часопису категорије M24; 1 саопштење на међународном скупу штампано у целини (M33) и 2 саопштења на међународном скупу штампана у изводу (M34).

Радови објављени у научним часописима међународног значаја (M20):

1. Radislavljević S, Čočić D, Jovanović S, Šmit B, Petković M, Milivojević N, **Planojević N**, Marković S, Petrović B. Synthesis, characterization, DFT study, DNA/BSA-binding affinity, and cytotoxicity of some dinuclear and trinuclear gold(III) complexes. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2019, 24: 1057–1076, ISSN: 0949-8257, IF2019: 3.246; DOI:10.1007/s00775-019-01716-8. **M21**
2. Soldatović TV, Selimović E, Šmit B, Asanin D, **Planojević NS**, Marković SD, Puchta R, Alzoubi BM. Interactions of zinc(II) complexes with 5'-GMP and their cytotoxic activity. *Journal of Coordination Chemistry*, 2019, 72 (4): 690–706, ISSN: 0095-8972, IF2018: 1.685; IF2019: 1.410; DOI:10.1080/00958972.2019.1569229. **M22**
3. Grujičić D, Marković A, Tubić Vukajlović J, Stanković M, Radović Jakovljević M, Ćirić A, Djordjević K, **Planojević N**, Milutinović M, Milošević-Djordjević O. Genotoxic and cytotoxic properties of two medical plants (*Teucrium arduini* L. and *Teucrium flavum* L.) in relation to their polyphenolic contents. *Mutat Res Gen Tox En*, 2020, 852: 2-9. ISSN: 1383-5718, IF2019: 2.506; DOI: 10.1016/j.mrgentox.2020.503168. **M22**

Радови објављени у научним часописима националног значаја (M24):

1. Nikezić A, Blagojević S, Ćupurdija M, **Planojević N**, Jovankić J, Rakobradović J, Vidanović D, Arsenijević D, Marković S. Comparative analysis of human DNA extraction methods and mitochondrial DNA HV1 and HV2 haplogroup determination. *Kragujevac J Sci*, 2020, 42: 73-83. ISSN: 2466-5509. **M24**

Саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33):

1. Soldatović T, Selimović E, Šmit B, Asanin D, **Planojević N**, Marković S, Puchta R, Alzoubi B. Interactions of zinc(II) complexes with N-donor ligands with 5'-GMP and their cytotoxic activity, 5th International Electronic Conference on Medicinal Chemistry, Sciforum Electronic Conference Series, vol. 5, no. 027261, Switzerland, 1. - 30. November 2019, pp. 1 – 11. ISBN: 10.3390/ECMC2019-06286. **M33**

Саопштења са међународног скупа штампано у изводу (M34):

1. Nikezić A, Blagojević S, **Planojević N**, Ćupurdija M, Jovankić J, Cvetković D, Veličković T, Simić V, Marković S. 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. November 14-16. 2019, pp. 140. ISBN: 987-86-7220-101-7 (FOC) **M34**
2. Ćupurdija M, **Planojević N**, Blagojević S, Nikezić A, Jovankić J, Milutinović M, Lazović M, Grbović F, Marković S. Comparative study of different DNA isolation methods from plants and fungus. 9th Conference of Serbian Biochemical Society "Diversity of Biochemistry", Belgrade, Serbia. November 14-16. 2019, pp. 83. ISBN: 978-86-7220-101-7 (FOC) **M34**

ЗАКЉУЧАК КОМИСИЈЕ

Кандидат Невена С. Планојевић, мастер биолог-молекуларни биолог, студент је докторских академских студија биологије, ужа област Физиологија и молекуларна биологија, у Институту за биологију и екологију Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу. Одслушала је завршну годину студија и положила све планом и програмом предвиђене испите. Резултате истраживања је публиковала у укупно 7 библиографских јединица: четири *in extenso* рада - три у међународним часописима са SCI листе (1-M21, 2-M22) и један рад у националном часопису категорије M24; 1 саопштење на међународном скупу штампано у целини (M33) и 2 саопштења на међународном скупу штампана у изводу (M34).

Увидом у доступну документацију и чињенице, као и анализом литературних података о стању истраживања у области предложене Дисертације, Комисија закључује да је предложена тема за израду докторске дисертације заснована на савременим научним сазнањима, те да ће реализација истраживања у оквиру ове теме представљати значајан допринос развоју области испитивања ћелијске и молекуларне биологије малигнух тумора хумане популације.

Сматрајући да постоје сви релевантни предуслови да се предложена истраживања квалитетно реализују, уз поштовање принципа професионалне и научне етике, посебно у погледу коришћења хуманог материјала, Комисија потврђује да је тема докторске дисертације „**Полиморфизми и експресија *CYP1* и *GSTP* гена као молекуларни маркери малигне трансформације хуманих тумора јајника и механизма биотрансформације нових терапеутика у примарним културама ћелија**“ актуелна и научно заснована, а кандидат **Невена С. Планојевић** испуњава услове за научноистраживачки рад и реализацију предложене докторске дисертације, у складу са Законом и одговарајућим Правилником Универзитета.

Комисија предлаже за **ментора** дисертације **доц. др Снежану Марковић**, Природно-математички факултет Универзитета у Крагујевцу.

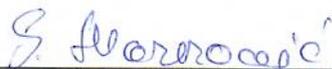
На основу свега изнетог, Комисија предлаже Наставно-научном већу Природно-математичког факултета и Већу за Природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу да усвоји Извештај о оцени научне заснованости теме и испуњености услова кандидата Невене С. Планојевић и ментора за израду докторске дисертације, те спроведе даљи поступак за реализацију предложене докторске дисертације.

У Крагујевцу,
11.01.2021.

КОМИСИЈА



Др Наташа З. Ђорђевић, ванредни професор; **председник Комисије**
Депарتمان за биомедицинске науке, Државни универзитет у Новом Пазару
Ужа научна област: Биологија;



Др Снежана Д. Марковић, доцент; **предложени ментор**
Природно-математички факултет, Универзитет у Крагујевцу
Ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија;



Др Емина Ј. Малишић, виши научни сарадник; **члан Комисије**
Институт за онкологију и радиологију Србије
Научна област: Медицинске науке; ужа научна област: Онкологија.