

| | |
|-----------|--------------|
| ПРИМЉЕНО: | 02.07.2024. |
| Ogr. j. | РЕДОСЛОВЈЕ |
| 04 | 490/20-2 - - |

ОБРАЗАЦ 6

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКОГ ФАКУЛТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ
и
ВЕЋУ ЗА ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКЕ НАУКЕ
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

На седници Већа за природно-математичке науке Универзитета у Крагујевцу одржаној 3.7.2024. године (број одлуке: IV-01-542/10) одређени смо за чланове Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом: „Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума”, кандидата Стефана Благојевића, студента докторских академских студија биологије, за коју је именован ментор др Данијела Цветковић, доцент и др Милена Милутиновић, доцент.

На основу података којима располажемо достављамо следећи:

ИЗВЕШТАЈ
О ОЦЕНИ УРАЂЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

| 1. Подаци о докторској дисертацији |
|---|
| 1.1. Наслов докторске дисертације: Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума |
| 1.2. Опис докторске дисертације (навести кратак садржај са назнаком броја страница, поглавља, слика, шема, графика, једначина и референци) (до 500 карактера): Докторска дисертација Стефана Благојевића је написана на 105 страна и садржи 12 слика, 18 графика, 17 табела и 224 референце. Састоји се из више целина: Увод, Циљ истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци, Литература и Прилог. Приложени текст је технички исправан и у складу са Правилником о пријави, изради и одбрани докторске дисертације. Докторска дисертација је из научне области Биологија, у же научне области Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија. |
| 1.3. Опис предмета истраживања (до 500 карактера): У оквиру докторске дисертације испитана је експресија циљаних молекула микроРНК, иРНК и протеина укључених у малигну трансформацију карцинома ендометријума (КЕ), као и њихов дијагностички потенцијал у раној фази болести. Додатно, истражена је асоцијација генетичких варијанти у оквиру гена за miR-196a2 и miR-146a са ризиком за развој КЕ. Комбиновањем тестиралих маркера формирани су панели од три и пет различитих молекула који у комбинацији показују добар дијагностички потенцијал. |

1.4. Анализа испуњености полазних хипотеза:

Једна од основних хипотеза ове докторске дисертације јесте да се испитивањем експресије молекула микроРНК, иРНК и протеина, укључених у малигну трансформацију КЕ, могу формирати дијагностички панели који дискриминишу КЕ у раном стадијуму од бенигних узорака ендометријума. Анализом експресије молекула miR-200a и miR-210, иРНК за *DICER1* и *PTEN*, као и протеина MMP-9 и PTEN, показано је да имају снажан потенцијал у детекцији КЕ у раном стадијуму болести. Комбиновањем ових маркера формирани су панели од три и пет различитих молекула за који је показано да одлично дискриминишу КЕ у раној фази болести од бенигних промена ендометријума.

С обзиром на то да се експресија тестираних молекула може детектовати и у телесним течностима различитим неинвазивним методама, добијени панели за детекцију КЕ у раном стадијуму описани у оквиру докторске дисертације могу представљати добру основу за будућа истраживања у оквиру студија базираним на примени течних биопсија и са већим бројем експерименталних узорака.

Имајући у виду наведене чињенице, Комисија сматра да су полазне хипотезе одговарајуће и да су испуњени предвиђени циљеви докторске дисертације.

1.5. Анализа примењених метода истраживања:

У оквиру докторске дисертације примењене су савремене експерименталне методе.

Стандардним хируршким захватима у Универзитетском клиничком центру Крагујевац од 2019. до 2022. године сакупљено је 40 узорака ткива КЕ и 16 контрола (бенигна стања). Тотална хистеректомија са билатералном салпингофоректомијом и лимфаденектомијом примењена је код пациенткиња са КЕ, док је код пациенткиња у контролној групи групи примењена експлоративна киретажа. Изолација молекула РНК из узорака вршена је помоћу стандардне фенол-хлороформ методе. Анализа експресије микроРНК и иРНК молекула вршена је помоћу реверзне транскрипције и квантитативног PCR-а у реалном времену.

Одређивање укупне концентрације протеина из ткивног лизата вршена је Bradford-овом методом док је одређивање концентрације протеина PTEN и MMP-9 вршена методом сендвич ELISA, помоћу доступних комерцијалних китова. За анализу дијагностичког потенцијала примењена је стандардна метода анализа ROC криве, док је за добијање најбоље комбинације тестираних молекула који синергистички испољавају најбољи дијагностички перформанс за детекцију КЕ коришћена метода линеарне регресије у оквиру софтвера SPSS.

Поред наведеног, изолација молекула ДНК одрађена је стандардном методом исољавања. Генотипизација генетичких варијанти rs11614913a у оквиру секвенце ДНК гена за miR-196a2 и rs6864584 у оквиру гена за miR-146a вршена је методом PCR-RFLP након чега су продукти рестрикционе реакције раздвојени методом агарозне гел електрофорезе.

Наведене методе се сматрају општеприхваћеним и савременим у научним истраживањима. Методе су прецизне, тачне и поновљиве због чега се добијени резултати сматрају прихватљивим. У складу са тиме, сматрамо да су све методе адекватне и одговарајуће за постизање циљева ове докторске дисертације.

1.6. Анализа испуњености циља истраживања:

Значај ове дисертације огледа се у испитивању експресије молекула микроРНК, иРНК и протеина укључених у неизоставне процесе малигне трансформације са циљем дифенисања потенцијалних биомаркера у детекцији КЕ током ране фазе болести. Анализом експресије тестираних молекула може се додатно унапредити тренутно знање о молекуларним механизима развоја и прогресије

КЕ. Са тим у вези, у оквиру докторске дисертације тестирана је експресија молекула микроРНК (miR-200a, miR-21, miR-210, miR-126 и miR-130a), иРНК (*DICER1*, *AGO2*, *PTEN*, *HIF1A*, *VEGFA*) и протеина (PTEN и MMP-9), као и њихов дијагностички потенцијал за детекцију КЕ у раној фази болести. Додатно, истражена је асоцијација генетичких варијанти у оквиру гена за miR-196a2 и miR-146a са ризиком за развој КЕ.

Испитивањем повезаности нивоа експресије анализираних молекула са патохистолошким карактеристикама КЕ добијени су резултати који указују на потенцијал за коришћење протеина MMP-9 као једног од маркера за одређивање типа агресивности КЕ. Додатно, добијени резултати указују на то да miR-200a, miR-21 и miR-210 имају потенцијалну улогу у регулацији пролиферације, ангиогенезе и инвазије КЕ, с обзиром на значајну корелацију са експресијом иРНК за *DICER1*, *PTEN* и *HIF1A* и концентрацијама протеина MMP-9. Резултати у оквиру докторске дисертације указују на то да профил експресије молекула miR-200a и miR-210, иРНК за *DICER1* и *PTEN*, као и протеина MMP-9 и PTEN, имају снажан потенцијал у детекцији КЕ у раном стадијуму болести.

Имајући у виду горе наведене чињенице, комисија сматра да су циљеви докторске дисертације испуњени.

1.7. Анализа добијених резултата истраживања и списак објављених научних радова кандидата из докторске дисертације (аутори, наслов рада, назив часописа, волумен, година објављивања, странице од-до, DOI број¹, категорија):

Кандидат Стефан Благојевић до сада има 4 рада публикована у истакнутим међународним часописима са SCI листе (2 рада из категорије M21, 1 рад из категорије M22 и 1 рад из категорије M23). Поред тога има 4 рада у националном часопису међународног значаја (M24), једну научну критику и полемику у истакнутом међународном часопису (M25), једно саопштење са међународног скупа штампано у целини (M33), девет саопштења на међународним скуповима штампаних у изводу (M34) и седам саопштења са сколова националног значаја штампаних у изводу (M64).

Резултати докторске дисертације су објављени у врхунском часопису међународног значаја (M21), научној критици и полемици у истакнутом међународном часопису (M25) и у оквиру два саопштења са сколова националног значаја штампаних у изводу (M64):

1. Blagojević S, Andrić B, Jovankić J, Milutinović M, Nikodijević D, Arsenijević P, Cvetković D. MicroRNA expression as a diagnostic parameter in early endometrial cancer. International Journal of Gynecological Cancer. 33, 2023, 1394-1401. DOI: 10.1136/ijgc-2023-004579. M21
2. Blagojević S, Milutinović M, Cvetković D. Response to: Correspondence on 'MicroRNA expression as a diagnostic parameter in early endometrial cancer' by Coada et al. International Journal of Gynecologic Cancer. 34, 2023, 177. DOI: 10.1136/ijgc-2023-005179. M25
3. 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. M64
4. Blagojević S, Jovankić, J, Andrić B, Milutinović M, Nikodijević D, Milojević S, Radenković N, Arsenijević P, Cvetković D. Dijagnostički значај mikroRNK-126 u ranom стадијуму adenokarcinoma endometrijuma. Prva konferencija Srpskog biološkog društva „Stevan Jakovljević”, Kragujevac, Srbija 20-22.09.2023. pp.102. ISBN 978-86-905643-4-7. M64

¹ Уколико публикација нема DOI број уписати ISSN и ISBN

1.8. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области и анализа извештаја о провери докторске дисертације на плахијаризам (до 1000 карактера):

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација, на Универзитету у Крагујевцу дана 17.06.2024. извршена је провера на плахијаризам докторске дисертације кандидата Стефана Благојевића.

На Универзитету у Крагујевцу је софтвером за проверу оригиналности утврђен индекс сличности од 3%. Степен подударања је последица понављања усталењих израза у оквиру методологије, затим навођења општих података о кандидату, установама, коменторима и библиографских података.

Увидом у радове кандидата Стефана Благојевића, изјављујемо да ова докторска дисертација представља оригинално научно дело у области молекуларне биологије и физиологије.

1.9. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области:

Правовремено откривање КЕ кључно је за успешно излечење пациенткиња. Адекватан скрининг тест за детекцију КЕ који је укључен у стандардну клиничку праксу тренутно не постоји, због чега постоји потреба за истраживањем нових специфичних туморских маркера. Истраживања која анализирају експресију циљаних гена и молекула микроРНК могу знатно проширити разумевање основних молекуларних механизама настанка и прогресије КЕ, пружајући нова сазнања у дијагностици, прогнози болести, као и у развоју иновативних терапеутских приступа.

Ова докторска дисертација доприноси бољем разумевању молекуларних механизама одговорних за настанак и ширење КЕ, нарочито у раној фази. Резултати истраживања указују на потенцијалну улогу молекула као што су miR-200a, miR-21, miR-210, miR-126 и miR-130a у регулацији малигне трансформације и прогресије карцинома. Поред тога, снижена експресије *DICER1* и *PTEN*, заједно са повиšеним нивоима *MMP-9* и *HIF1A*, указује на њихову улогу у стицању инвазивног фенотипа. Ова докторска дисертација такође истиче потенцијалне биомаркере за рану дијагностику КЕ. Конкретно, протеин *MMP-9* се издваја као маркер агресивности тумора. Комбиновањем различитих потенцијалних маркера формирани су панели који показују високу дијагностичку прецизност, што указује на њихов значајан потенцијал за побољшање дијагностичких метода.

Ови резултати не само да продубљују тренутно знање о молекуларним механизмима развоја и прогресије КЕ, већ и воде ка предлогу нових приступа за рану детекцију ове болести, што би могло имати значајан утицај на клиничку праксу и исходе лечења пациенткиња.

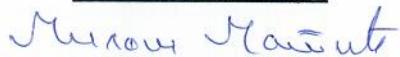
1.10. Оцена испуњености услова за одбрану докторске дисертације у складу са студијским програмом, општим актом факултета и општим актом Универзитета (до 1000 карактера):

Докторска дисертација под називом „**Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума**“ Стефана Благојевића урађена је под коменторством др Данијеле Цветковић, доцента факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу и др Милене Милутиновић, доцента Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу. Докторска дисертација обухвата анализу експресије молекула микроРНК, иРНК и протеина, као и њихову примену у формирању панела за детекцију КЕ у раној фази болести. Квалитет добијених резултата је потврђен публиковањем рада у врхунском часопису од међународног значаја M21 категорије, као и на саопштењима са скупа националног значаја штампаним у изводу категорије M64. Имајући у виду наведене чињенице, комисија сматра да су испуњени сви научни, стручни и административни услови за одбрану наведене докторске дисертације.

2. ЗАКЉУЧАК

На основу анализе докторске дисертације и приложене документације Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом „**Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума**”, кандидата Стефана Благојевића, предлаже надлежним стручним органима да се докторска дисертација прихвати и да се одобри њена одбрана.

Чланови комисије:



Др Милош Матић, ванредни професор

Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет

Ужа научна област: Физиологија животиња и човека и молекуларна биологија

Председник комисије



Др Петар Арсенијевић, ванредни професор

Универзитет у Крагујевцу, Факултет медицинских наука

Ужа научна област: Гинекологија и акушерство

Члан комисије



Др Зорана Добријевић, виши научни сарадник

Универзитет у Београду, Институт за примену нуклеарне енергије

Научна област: Биолошке науке

Члан комисије



Наставно-научном већу Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу
Већу катедре Института за биологију и екологију

Предмет: Мишљење руководиоца ДАСБ о Извештају Комисије о оцени урађене докторске дисертације кандидата Стефана Благојевића

На основу увида у писани материјал Извештаја Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом „Експресија микроРНК и њихових регулаторних гена као дијагностички параметар у раном стадијуму карцинома ендометријума“, кандидата Стефана Благојевића, студента ДАС Биологије Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу, обавештавам вас да **Извештај испуњава критеријуме** прописане Законом о високом образовању, Правилником о пријави, изради и одбрани докторске дисертације Универзитета у Крагујевцу, Правилником о докторским академским студијама Природно-математичког факултета Универзитета у Крагујевцу и Правилником о пријави, изради и одбрани докторске дисертације на Природно-математичком факултету Универзитета у Крагујевцу.

У Крагујевцу,
28. 08. 2024. године

Руководилац ДАС Биологије

Невена Ђукић
др Невена Ђукић, редовни професор

