

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИЉЕНО	20.07.17		
Служба	Број	Датум	Број
05	8854/2-2		

**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 13.07.2017. године, одлуком бр. IV-03-713/17 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Експресија гена ABCB1 и гена регулатора апоптозе као фактора резистенције на хемиотерапију код оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије” кандидата Ксеније Вучићевић, у следећем саставу:

1. проф. др Предраг Ђурђевић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, председник;
2. проф. др Драгана Стаматовић, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан;

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију mg ph Ксеније Вучићевић и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

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

Докторска дисертација кандидата mg ph Ксеније Вучићевић под називом „Експресија гена ABCB1 и гена регулатора апоптозе као фактора резистенције на

хемиотерапију код оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије”, урађена под менторством научног саветника Соње Павловић, са Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду, представља оригиналну научну студију која се бави истраживањем експресије гена ABCB1 и гена регулатора апоптозе као фактора резистенције на хемиотерапију код оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије. Анализирана је експресија ABCB1 гена чији је продукт протеин ћелијске мембране који учествује у ефлуксу лекова из ћелија, као и утицај две варијанте у ABCB1 гену (rs1045642, с.3435С > Т и rs20132582, с. 2677G > Т/А), на његову експресију. Поред тога изучавана је и експресија Bcl2 и Вах гена, која може да укаже на статус апоптотског система у ћелијама пацијената оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије.

Експресија гена је изучавана у мононуклеарним ћелијама периферне крви 46 пацијената оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије и 53 здраве контроле методом реверзне транскрипције и ланчане реакције полимеразе у реалном времену (qRT-PCR), док је детекција варијанти у ABCB1 гену урађена методом ланчане реакције полимеразе и дигестијом рестрикционим ензимом (PCR-RFLP).

У овој студији није детектована статистички значајна разлика у учесталости варијантних алела у ABCB1 гену, с.3435С > Т и с.2677G > Т/А, између здравих контрола и пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом, што указује да ове генетичке варијанте нису фактори ризика за обољевање од хроничне лимфоцитне леукемије.

Праћењем генетичких маркера транспортне резистенције на лекове у пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом, уочено је да је повишен нивоа експресије ABCB1 гена статистички значајно повезан са парцијалном, а не комплетном ремисијом. Наш резултат говори у прилог да је експресија ABCB1 гена потенцијални маркер транспортне резистенције.

Праћењем генетичких маркера апоптотске резистенције на лекове код пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом, уочено је да је повишен Bcl2/Вах однос статистички значајно повезан са парцијалном, а не комплетном ремисијом.

Ово је прво истраживање које се бави генетичким маркерима транспортне и апоптотске резистенције на лекове код пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом у Србији.

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

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „*Medline*“ и „*KoBSON*“, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*chronic lymphocytic leukemia*“, „*gene expression*“, „*ABCBI*“, „*Bcl2*“, „*Bax*“ и „*resistance to chemotherapy*“ нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата *mr ph* Ксенија Вучићевић под називом „Експресија гена *ABCBI* и гена регулатора апоптозе као фактора резистенције на хемиотерапију код оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Mr ph Ксенија Вучићевић је дипломирала на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу 15.09.2011. године са просечном оценом 8,61, и стекла звање магистра фармације. Школске 2011/2012. године уписује докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Молекулска медицина - подручје Клиничка и експериментална фармакологија. Усмени докторски испит је положила 11.04.2014. године, са просечном оценом 9. Школске 2016/2017. године уписује специјалистичке студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу изборно подручје Фармацеутска технологија.

Кандидат је аутор више оригиналних научних радова и први аутор у једном раду објављеном у часопису индексираном на *SCI* листи. Резултати рада наведени под редним бројем 1 саставни су део докторске дисертације, чиме је кандидат испунио услов за одбрану докторске дисертације.

У истраживању под називом „*Association of Bax expression and Bcl2/Bax ratio with clinical and molecular prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia*“ у коме је кандидат први аутор представљен је део резултата саме докторске дисертације. Циљ ове студије је био да се испита удруженост нивоа експресије проапоптотског *Bax* гена, као и *Bcl2/Bax* односа, са клиничким карактеристикама болесника са хроничном лимфоцитном леукемијом, као и молекуларним прогностичким маркерима, и то мутационим статусом

реаранжираних гена за тешке ланце имуноглобулина и експресијом гена за липопротеинску липазу. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M23** (J Med Biochem. 2016; 35: 150 –157)

У студији под називом „HLA genotyping in pediatric celiac disease patients“ приказана је дистрибуција HLA-DQ генотипа у групи педијатријских пацијената оболелих од целијакије. Највећи ризик за развој целијакије имају хомозиготи за DQ2.5 хаплотип. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M23** (Bosn J Basic Med Sci. 2014; 14(3): 171-176)

У истраживању под називом „Expression of the Bcl2 gene in chronic lymphocytic leukaemia patients“ анализирана је експресија анти-апоптогског Bcl2 гена у групи од 58 пацијената оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије. Методом квантитативног RT-PCRа детектована је повишена експресија Bcl2 mRNA у узорцима оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије у односу на контролне узорке. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M52** (Ser J Exp Clin Res 2015; 16 (3): 187-191)

У студији под називом „Analysis of Treatment-Related Factors Affecting Mortality in Patients with Severe Necrotizing Acute Pancreatitis“ циљ је био испитивање фактора везаних за иницијалну терапију тешког акутног некротизујућег панкреатитиса који могу да допринесу смртном исходу. Значајна повезаност је уочена у случају примене желатина и/или хидроксиетил скроба, албумина или октреотида, док је примена нестероидних антиинфламаторних лекова имала протективну улогу. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M52** (Acta facultatis medicae Naissensis. 2016; 33(3): 173-185)

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

1. **Vucicevic K**, Jakovljevic V, Colovic N, Tosic N, Kostic T, Glumac I, Pavlovic S, Karan-Djurasevic T, Colovic M. Association of Bax Expression and Bcl2/Bax Ratio with Clinical and Molecular Prognostic Markers in Chronic Lymphocytic Leukemia. J Med Biochem. 2016 Apr;35(2):150-157. **M23**
2. Stanković B, Radlović N, Leković Z, Ristić D, Radlović V, Nikčević G, Kotur N, **Vučičević K**, Kostić T, Pavlović S, Zukic B. HLA genotyping in pediatric celiac disease patients. Bosn J Basic Med Sci. 2014 Aug 16;14(3):171-6. **M23**

3. **Vucicevic K**, Jakovljevic V, Sretenovic J, Tosic N, Kostic T, Glumac I, Colovic M, Colovic N, Pavlovic S, Karan-Djurasevic T. Expression of the Bcl2 gene in chronic lymphocytic leukaemia patients. *Ser J Exp Clin Res* 2015; 16 (3): 187-191 **M52**
4. Praznik I, Spasić M, Radosavljević I, Stojanović B, Čanović D, Radovanović D, Savović Z, Vojinović R, Babić Ž, Đonović N, Luković T, Lazarević P, Đorđević N, Kostić I, Jelić I, Petrović J, Stojanović S, Jurišević M, Grubor I, Nikolić Lj, **Vučičević K**, Artinović V, Milojević A, Kostić M, Stefanović S, Janković S. Analysis of Treatment-Related Factors Affecting Mortality in Patients with Severe Necrotizing Acute Pancreatitis. *Acta facultatis medicae Naissensis*. 2016; 33(3): 173-185 **M52**

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

Сprovedено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација *mg ph* Ксеније Вучићевић садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви и хипотезе, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Написана је на 52 стране и има 5 табела и 16 слика. Поглавље Литература садржи 68 цитираних библиографских јединица из иностраних и домаћих стручних публикација.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на јасан и прецизан начин и цитирајући релевантну литературу изложио актуелна сазнања о вишеструкој резистенцији на лекове, транспортној резистенцији на лекове и улози гена ABCB1, улогама апоптозе и Bcl2 у хроничној лимфоцитној леукемији, ако и Bcl2/Bax односу.

Циљеви и хипотезе истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Кандидат је у свом раду намеравао да анализира утицај фармакогенетичких маркера укључених у резистенцију на хемиотерапију (експресија ABCB1 гена и полиморфизам две варијанте у ABCB1 гену (rs1045642 - 3435C > T, Cc114511c и rs20132582 - 2677G > T/A, Ala893Ser/Thr), као и експресија Bcl2 и Bax гена) на терапијски одговор код пацијената оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије

Материјал и методологија рада су прецизно формулисани и подударају се са одобреним приликом пријаве тезе. Истраживање је дизајнирано као клиничка проспективна студија која је укључила 46 пацијената оболелих од хроничне лимфоцитне

леукемије лечених на Клиници за хематологију Клиничког центра Србије у Београду. Поред тога у студију су били укључени и узорци здравих контрола (53) из биобанке Лабораторије за молекуларну биомедицину Института за молекуларну генетику и генетичко инжињерство Универзитета у Београду, које су биле усклађене по полу и старости са пацијентима. За изолацију ДНК из крви коришћен је QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Germany). За изолацију РНК из моноклеарних ћелија је коришћен TRIzol® (Invitrogen). TRIzol® представља монофазан раствор фенола и гуанидин-изотиоцијаната, а сам процес изолације представља унапређен класичан метод изолације РНК дефинисан од стране *Chomczynski P & Sacchi N* (Chomczynski P & Sacchi N, 1987).

Резултати истраживања су систематично приказани табелама (укупно 3) и сликама (укупно 10). Показано је да нема статистички значајне разлике у учесталости варијантних алела у ABCB1 гену, *c.3435C > T* и *c.2677G > T/A*, између здравих контрола и пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом. У групи пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом 40% пацијената је имало високу експресију ABCB1 гена, која се значајно разликује од експресије овог гена која је слична новоу експресије код здравих контрола. Резултати нису показали асоцијацију варијанти ABCB1 гена, *c.3435C > T* и *c.2677G > T/A*, нити варијантних генотипова, са експресијом ABCB1 гена. Уочено је да је повишен ниво експресије ABCB1 гена, као и повишен Bcl2/Bax однос, статистички значајно повезан са парцијалном, а не комплетном ремисијом код пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом.

У поглављу „Дискусија“ детаљно су објашњени резултати истраживања, тако што је појединачно образложена повезаност експресије испитиваних гена са резистенцијом хемиотерапију код оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије. Добијени резултати упоређени су и са литературним подацима других аутора из ове области, уз истовремено указивање на велику разноликост резултата истраживања повезаних са темом спроведеног истраживања.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата *mg ph* Ксеније Вучићевић под називом „Експресија гена ABCB1 и гена регулатора апоптозе као фактора резистенције на хемиотерапију код оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије“, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

На основу резултата истраживања изводе се закључци да пошто није детектована статистички значајна разлика у учесталости варијантних алела у ABCB1 гену, с.3435C > T и с.2677G > T/A, између здравих контрола и пацијената са хроничном лимфоцитном леукемијом, ове генетичке варијанте нису фактори ризика за обољевање. Такође, може да се закључи да је у 40% пацијената експресија ABCB1 гена позитиван маркер за потенцијалну појаву резистенције на лекове, као и да је експресија ABCB1 гена потенцијални маркер транспортне резистенције, а Bcl2/Bax однос потенцијални маркер апоптотске резистенције код пацијената оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије лечених FC (Fludarabin - Ciklofosamid) протоколом.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригиналан и веома важан допринос начину лечења хроничне лимфоцитне леукемије, као и евентуалној могућности предикције развоја резистенције на стандардне хемиотерапијске агенсе.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираним на SCI листи (категорија M23).

Vucicevic K, Jakovljevic V, Colovic N, Tosic N, Kostic T, Glumac I, Pavlovic S, Karan-Djurasevic T, Colovic M. Association of Bax Expression and Bcl2/Bax Ratio with Clinical and Molecular Prognostic Markers in Chronic Lymphocytic Leukemia. J Med Biochem. 2016 Apr;35(2):150-157. **M23**

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата mr ph Ксеније Вучићевић под називом „Експресија гена ABCB1 и гена регулатора апоптозе као фактора резистенције на хемиотерапију код оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије” сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата mr ph Ксеније Вучићевић, под менторством научног саветника Соње Павловић, представља оригинални научни и практични допринос у лечењу хроничне лимфоцитне леукемије.

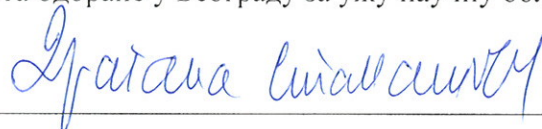
Комисија са задовољством предлаже предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Експресија гена ABCB1 и гена регулатора апоптозе као фактора резистенције на хемиотерапију код оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије“, кандидата mr ph Ксеније Вучићевић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

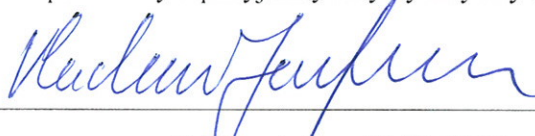
проф. др Предраг Ђурђевић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, председник



проф. др Драгана Стаматовић, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан



проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан



У Крагујевцу, 14.07.2017. године