

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ПРИМЉЕНО:	30. 08. 2018.
Број:	05
Својеручно:	9224/2-1
Датум:	

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-449/40 од 06.06.2018. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Катарине Витошевић**, под називом:

„ Утицај формалина и парафинског блока на фрагментацију молекула ДНК у хуманим ткивима изузетих приликом извођења судскомедицинских обдукција “

Чланови Комисије су:

1. **Проф. др Оливера Милошевић-Ђорђевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Генетика, председник;
2. **Проф. др Слободанка Митровић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;
3. **Доц. др Оливер Стојковић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хумана генетика, члан.

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи:

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације:

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Катарина Витошевић је рођена 09.03.1983. године у Чачку. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу уписала је школске 2002/2003. године, а завршила 2009. године са просечном оценом 9.35. Докторске академске студије уписала је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу школске 2010/2011. изборно подручје Хумана репродукција и развој. Од марта 2011. до јула 2012. године волонтирала је у Заводу за хитну медицинску помоћ, Крагујевац. Од јуна 2013. до јануара 2014. године волонтирала је у Служби за судску медицину

и токсикологију КЦ, Крагујевац. Од јануара 2014. запослена је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, као сарадник у настави на Катедри за Анатомију и судску медицину, а од јуна 2017. је у звању истраживач приправник. Специјализацију из судске медицине је уписала априла 2014. године на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

Учествовала је на јуниор пројекту „Утицај формалина и парафинског блока на степен фрагментације молекула ДНК у ткивима јетре, срца и мозга изузетих приликом извођења судскомедицинских обдукција“ финансираног од стране Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

Удата је, мајка двоје деце.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске дисертације

Наслов: „Утицај формалина и парафинског блока на фрагментацију молекула ДНК у хуманим ткивима изузетих приликом извођења судскомедицинских обдукција“

Предмет: Утврдити утицај врсте формалина, врсте ткива, дужине фиксације ткива у формалину и парафинског блока на степен фрагментације молекула ДНК, и упоредити концентрацију и квалитет молекула ДНК изолованих коришћењем две различите методе изоловања ДНК из узорак ткива фиксираних у формалину и исечака ткива из парафинског блока.

Хипотезе:

1. Формалин деградује молекулу ДНК. Степен и брзина фрагментације ДНК зависе од врсте формалина, врсте ткива и дужине инкубације ткива у формалину.
2. Време чувања узорак ткива у парафинским блоковима (до 30 година) утиче на већи степен фрагментације молекула ДНК
3. Постоји разлика у степену фрагментације молекула ДНК у различитим хуманим здравим ткивима (срце, јетра, мозак, бубрези и плућа) фиксираним у раствору формалина.
4. Постоји разлика у степену фрагментације молекула ДНК у различитим хуманим здравим ткивима (срце, јетра, мозак) укалупљеним у парафинским блоковима.
5. Постоји значајна разлика у приносу и квалитету молекула ДНК у односу на примењене методе изоловања ДНК из одговарајућих узорак.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је као први аутор публиковала један рад у целини у часопису са рецензијом категорије M51, чиме је испуњен услов за пријаву теме докторске дисертације.

Vitošević K, Todorović D, Slović Ž, Živković Zarić R, Todorović M. Forensic genetics and genotyping. Ser J Exp Clin Res 2016; doi:10.1515/SJECR-2016-0074 **M51**,

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Анализа хумане геномске дезоксирибонуклеинске киселине (ДНК) има широку примену у форензичкој генетици, с обзиром да су молекули ДНК јединствени и непоновљиви у хуманој популацији. Делови ланца ДНК који су универзални сегменти, идентични су код свих јединки у оквиру исте врсте, док су варијабилни сегменти различити код различитих јединки. Управо се ова друга врста сегмената користи за ДНК типизацију приликом форензичке идентификације људи. Геномска ДНК се може изоловати из биолошког материјала у коме постоје ћелије са једром. Најбољи резултати се постижу анализом живих ткива, али и материјал са обдукције може бити употребљив све док, због одмаклих трулежних промена, не дође до потпуног уништења једарног материјала. Примена форензичке ДНК анализе постала је суверена метода у утврђивању идентитета особе, разјашњењу случајева криминалних радњи, утврђивању очинства, идентификацији жртва катастрофа и других. Идентификацију је могуће извршити било на основу упоређивања ДНК профила неидентификоване особе са ДНК профилем сродника, или се упоређују ДНК профили који постоје у одговарајућој архиви узорака.

У току судскомедицинске обдукције као стандардна процедура изузимају се узорци различитих ткива, који се фиксирају у раствору формалина, праве се парафински блокови и врше хистоморфолошка испитивања. Фиксација је кључни корак током обраде узорака јер зауставља процес труљења и доприноси очувању морфологије ткива. Формалин је најчешће коришћен фиксатив у хистопатологији. Формалин доводи до стварања унакрсних веза између ДНК и протеина, кидања N-гликозидних веза, фосфодiestарских веза и до фрагментације молекула ДНК, што ограничава употребу ових узорака у форензичкој генетици. Због тога је важно да дужина фиксације ткива у формалину буде оптимална. Последњих деценија у употреби је и 10% пуферизовани формалин који показује извесне предности у односу на непуферизовани, који је до пре 10-так година коришћен у лабораторијама код нас и у свету.

Фиксација ткива у формалину и прављење парафинских блокова је најраспрострањенија метода у хистопатологији и сматра се стандардном методом за очување биолошких узорака за дужи временски период. Поред очувања хистолошког квалитета препарата, укалупљена ткива представљају базу за спровођење ретроспективних генетичких и епидемиолошких студија, за студије ретких болести, али се користе и у форензици као извор ДНК. У случају форензичке истраге, узорци ткива у парафинским блоковима могу бити последњи и једини доступни извор

за анализу генетичких профила и могу допринети у идентификацији и разјашњењу нерешених судских случајева.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

За форензичку праксу је јако важно пронаћи адекватан начин за чување узорака ткива након обдукције, који би омогућио изолацију нефрагментисаног молекула ДНК и након дугог низа година. Ако из узорака ткива из парафинских блокова старих до 30 година изолујемо молекул ДНК, и покажемо у којој врсти ткива је молекул ДНК најмање фрагментисан, управо овај метод може бити одређен за стандардну процедуру приликом сваке судскомедицинске обдукције. Избор најподеснијег ткива, стандардизовање начина за прављење парафинских блокова и њихово адекватно чување, имало би за резултат стварање архиве са узорцима ткива која би били доступна за форензичке анализе. Оптимизирање процеса изолације молекула ДНК, такође би било од великог значаја за добијање ДНК високог квалитета из парафинских узорака. С обзиром да ДНК локуси које форензичари изучавају не кодирају протеине и да су распрострањени у оквиру целог генома, ови локуси су неутрални и не дају било какве информације о индивидуалности, осим о идентитету.

Циљ студије

Због изузетног значаја које исечци ткива, као носиоци молекула ДНК могу имати као материјално доказно средство у судским процесима, циљеви нашег истраживања су следећи:

1. Испитати утицај врсте формалина, врсте ткива и дужине фиксације ткива у формалину на хистоморфолошке промене и степен фрагментације молекула ДНК;
2. Испитати утицај парафинског блока на деградацију молекула ДНК у различитих здравим хуманим ткивима, до 30 година уназад;
3. Упоредити концентрацију и квалитет молекула ДНК изолованих коришћењем две различите метода изоловања ДНК (екстракција фенолом-хлороформом-изоамил алкохолем и помоћу комерцијалног комплета) из узорака ткива фиксираних у формалину и исечака ткива из парафинског блока.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

У литератури је показано да је могуће изоловати геномску ДНК и урадити генетичка испитивања на узорцима туморских ткива која су чувана ускладиштена у виду парафинских блокова и преко једне деценије. С обзиром да је туморско ткиво посебно по својим карактеристикама и да се у многим параметрима разликује од здравог ткива, важно је изоловати

молекула ДНК из здравог ткива, изузетог у току судскомедицинске обдукције, које је током вишегодишњег периода чувано у парафинским блоковима. Само у малом броју студија истраживања су урађена на здравим, нетуморским ткивима, добијеним у току обдукције, али се резултати тих истраживања односе на кратак временски период (5-10 година) и за само одређена ткива. Такође има мало података у литератури о утицају дужине фиксације здравих ткива у формалину на степен фрагментације молекула ДНК, па је у интересу одредити оптималне услове за фиксацију здравог ткива, како би се спречила деградација ДНК пре калупљења ткива у парафинске блокове. Поред тога не постоји сагласност научника ни око избора адекватне методе за депарафинизацију и изоловање ДНК из парафинских узорака, што у великој мери утиче и на концентрацију и квалитет изоловане ДНК. Информације о томе колико је дуго интегритет молекула ДНК очуван у здравим ткивима фиксираним у формалину и укалупљеним у парафинским блоковима и у ком ткиву је степен фрагментације ДНК најмањи, као и информације о избору најадекватније методе за изоловање ДНК, допринеле би постављању стандарда за прављење архиве, у којој би се парафински узорци чували на најадекватнији начин, онолико година, колико је ДНК очувана и корисна за спровођење одговарајућих генетичких анализа. На тај начин сачувана ДНК може послужити за идентификацију особа које су у тренутку смрти биле неидентификоване или погрешно идентификоване, као и за друге генетичке анализе које би имале значаја у судским споровима и након смрти одређене особе (идентификација особе која је пре смрти извршила злочин, утврђивање очинства или родбинских веза након смрти особе и др.), а без ексхумације лешева.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Студија је дизајнирана као експериментална студија на материјалу хуманог порекла *in vitro*.

2.7.2. Популација која се истражује

За истраживање ће се користити исечци здравог хуманог ткива срца, јетре, мозга, плућа и бубрега који ће бити изузети у току судскомедицинских обдукција са лешева, чија је смрт наступила у периоду од 12h до 24h пре обдукције. Узорци ће бити изузимани са лешева здравих особа старости између 20 и 50 година, који су умрли насилном смрћу (убиство, самоубиство, задес). Све обдукције се изводе по наредби тужилаца и судија са подручја Апелационог суда и Апелационог јавног тужилаштва у Крагујевцу.

2.7.3. Узорковање

У току судскомедицинске обдукције изузимају се делови ткива срца, јетре, мозга, плућа и бубрега величине 2,5x1,5x2,5 cm. Део ткива ће бити потопљен у 4% непуферизованом формалину (ZORKA Pharma-HEMIJA d.o.o.), а други део изузетих ткива у 10% пуферизованом формалину (Alfaaron). Узорци ткива биће инкубирани у формалину у херметички затвореним пластичним теглицама са пластичним затварачем, прописно обележеним одговараћим лешним бројем и датумом узимања. Дужина инкубације ткива у формалину биће 6h, 24h, 48h, 72h, 96h.

5 дана, 6 дана, 7 дана, 10 дана, 14 дана, 28 дана и 60 дана. Сви узорци ће бити подељени по групама које ће се међусобно разликовати по врсти ткива (срце, јетра, мозак, плућа и бубрези). Контролни узорци биће молекули ДНК изоловани из ткива срца, јетре, мозга, плућа и бубрега одмах након обдукције.

Другу групу узорака чине исечци ткива срца, јетре и мозга из парафинских блокова старих до 30 година. Узорци ће бити груписани у групе од по 5 година (укупно 6 група), при чему ће свака група садржати узорке три ткива. Парафински блокови се чувају одвојени по лешним бројевима и годинама у архиви Службе за судску медицину и токсикологију КЦ Крагујевац у сувој, тамној просторији, на собној температури.

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле студије (узроци) су: дужина инкубације узорака ткива у формалину и парафинском блоку, врста ткива, врста формалина и начин изолације молекула ДНК.

Зависне варијабле (исход) представљаће вредности мерених параметара: хистоморфолошке промене на ткивима, концентрација и квалитет изоловане ДНК и степен фрагментације молекула ДНК.

Прављење парафинских блокова – процес фиксације ткивног материјала и прављење парафинских блокова у Служби за судску медицину и токсикологију КЦ Крагујевац се изводи према протоколу РТ.35.11. Процес фиксације почиње потапањем ткивних исечака у 4% непуферизовани формалин. Дужина времена фиксације зависи од врсте ткива и траје у просеку од 6 до 72h, а некад и дуже. Након обраде у аутотехнику врши се разливање ткивног материјала у посебне парафинске калупе који се након хлађења секу и спремају за даљу обраду. На исти начин ће бити укалупљена и ткива која ћемо фиксирати у непуферизованом и пуферизованом формалину до 60 дана.

Прављење микроскопских препарата и хистоморфолошки опис ткива - у Служби за судску медицину и токсикологију КЦ Крагујевац примењује се патохистолошка метода бојења ткива хематоксилином и еозином, према протоколу РТ.35.01. Парафински блокови се након хлађења секу на ротационом микротому (LEICA RM 2135) на резове дебљине од 4 до 8 μ m и монтирају на предметна стакла. Депарафинизовани резови се боје Мауеровим хематоксилином и алкохолним еозином и монтирају канада балзамом. Препарати ће бити анализирани на микроскопу (Zeiss Axioscope.A1) и описани хистоморфолошки, да би се искључили из студије препарати где постоји некроза, аутолиза или неки други патолошки процес.

Депарафинизација парафинских калупа - За процес депарафинизације користићемо узорке ткива из парафинских блокова исечених на ротационом микротому на резове дебљине 10 μ m при чему ће прва два до три листића бити одбачена. Депарафинизација ће бити урађена у ксилолу и растворима етанола.

Припрема ткива која су фиксирана у формалину за изолацију молекула ДНК - ткива фиксирана у 4 % непуферизованом као и у 10 % пуферизованом формалину прво ће се исећи на мање делове ткива промера 3x3 mm. Након тога ткиво ће бити измацерисано скапелом и

инкубирано у апсолутном, а након тога и у 70 % етанолу. Тако припремљени узорци биће спремни за изолацију молекула ДНК.

Изоловање молекула ДНК - геномска ДНК ће бити изолована из припремљених узорака ткива фиксираних у 4 % непуферизованом као и у 10 % пуферизованом формалину и из депарафинисаних узорака различитих ткива. За изоловање молекула ДНК ћемо користити две различите методе: методу која се заснива на екстракцији фенол-хлороформ-изоамил алкохолом ("златни стандард") и методу која подразумева коришћење комерцијалног комплета (PureLink Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen). Изолована ДНК ће бити растворена у ТЕ пуферу и чувана на -20°C до употребе.

Спектрофотометрија - концентрација ДНК у узорку биће одређена спектрофотометријски, мерењем апсорбације на 260 nm (A260). Апсорбацију од једне оптичке јединице (OD) даје 50 µg/mL дволанчане ДНК. За одређивање чистоће узорака, тј. квалитета изоловане ДНК, одређиваћемо однос A260/A280, који представља однос апсорбације нуклеинских киселина (A260) и протеина (A280). Такође ћемо одређивати однос апсорбација A260/A230 које указују на контаминацију солима и неким растварачима као што је фенол, као и апсорбацију на 320nm на којој светлост апсорбују различите нечистоће и која указује на то да ли постићи замућење, као индикатор могуће контаминације.

Ланчана реакција полимеразе (polymerase chain reaction, PCR) - за одређивање степена фрагментације молекула ДНК користимо ланчану реакцију полимеразе, која се заснива на амплификацији одређеног сегмента ДНК. Користићемо прајмере за 3 гена различите дужине:

1. GPD1 (glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1) величине 150 bp
2. ACTB (β actin) величине 262 bp
3. RPL4 (ribosomal protein L4) величине 407 bp

За PCR амплификацију користићемо одговарајући пуфер и прајмере. После оптимизирања услова за извођење PCR реакције и одређивања одговарајућег броја циклуса, у свим узорцима ће бити амплификовани поменути гени. Радићемо мултиплек PCR (дуплекс, односно триплекс), који подразумева истовремену амплификацију више (два, односно три) гена у истом узорку ДНК.

Агарозна електрофореза - ампликони ће бити анализирани на 2% агарозном гелу у присуству етидијум-бромида. Након електрофорезе гелови ће бити визуелизовани, анализирани и фотографисани.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

За израчунавање снаге студије и величине узорка за ткива која су фиксирана у формалину, као и ткива која су укалупљена у парафинске блокове коришћен је статистички програм G* power v 3.1.3. Пошто нема аналитичких студија из ове области, предпостављена величина ефекта за ткива која су фиксирана у формалину, као и ткива која су укалупљена у парафинске блокове је израчуната на основу прелиминарних резултата.

За ткива фиксирана у формалину, узимајући алфа грешку од $\alpha=0.05$, снагу студије од $(1-\beta)=0.9$, број група 5, претпостављену значајност од 20% и корелацију између понављаних мерења од 0,3, најмањи број узорака који је потребан по једној временској тачки је 40. Пошто пратимо ефекте формалина у 13 различитих временских тачака укупан број узорака потребан за ово истраживање је 520.

За ткива која су укалупљена у парафинске блокове, узимајући алфа грешку од $\alpha=0.05$, снагу студије од $(1-\beta)=0.8$, број група 18, претпостављену значајност од 20% и корелацију између понављаних мерења од 0,3, најмањи број узорака који је потребан је 522 (број узорака по години по ткиву је 5,8). Израчунатом величином узорка добија се актуелна снага студије од 0,8154861 (81,55%). Коригујући број узорака по години по ткиву на 6, број узорака који је потребан за ово истраживање је 540.

Укупан број узорака у овој студији биће 1060.

2.7.6. Статистичка обрада података

Дескриптивна статистика ће бити генерисана за све варијабле у студији. Пре статистичке обраде података, прво ће се испитати правилност расподеле добијених вредности континуалних варијабли помоћу Kolmogorov-Smirnov или Shapiro-Wilk теста. Резултати чистоће и принос молекула ДНК биће представљени као средња вредност \pm стандардна девијација (SD) и биће приказани табеларно и графички. Значајност разлика по групама биће евидентирана Post Hoc тестирањем (Bonferroni тестом, Dunnett тестом или Tukey тестом) у оквиру анализа ANOVA (једносмерна анализа варијансе) или непараметријским Friedman тестом у случају неправилне дистрибуције података. Некатегоријске варијабле изразиће се као апсолутне и релативне вредности (број/процент/фреквенција). Статистички значајна разлика у добијеним вредностима између група износи $p<0,05$, док је статистички веома значајна разлика за $p<0,01$. Све статистичке анализе биће спроведене помоћу комерцијалног статистичког програма SPSS 20.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Планирана истраживања ће нам показати у ком степену је молекула ДНК очуван у здравим хуманим ткивима, која су укалупљена у парафинске блокове дуги низ година (до 30 година) и да ли се изолована ДНК може користити у форензичкој пракси. Такође, очекујемо да добијемо одговоре на питања у којим хуманим ткивима је ДНК најбоље очувана и која је метода за изолацију ДНК најподеснија: којом методом се добија највећа концентрација ДНК и најчистија ДНК, ослобођена од протеина, растварача и других нечистоћа. С обзиром да је један од кључних корака у процесу прављења парафинских блокова фиксација ткива у формалину, ово истраживање треба да нам покаже који формалин најмање деградује молекула ДНК из ткива, које је ткиво најподесније, као и који је максимални временски период формалинске фиксације, како би се добио задовољавајући узорак за изолацију молекула ДНК.

2.9. Очекивани садржај дисертације

Истраживање ће бити реализовано на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу и у Клиничком центру Крагујевац, у Служби за судску медицину и токсикологију. За истраживање ће се користити исечци здравог хуманог ткива срца, јетре, мозга, плућа и бубрега који ће бити изузети у току судскомедицинских обдукција са лешева, чија је смрт наступила у периоду од 12h до 24h пре обдукције. Део ткива ће бити фиксиран у 4% непуферизованом формалину, а други део изузетих ткива у 10% пуферизованом формалину. Дужина инкубације ткива у формалину биће 6h, 24h, 48h, 72h, 96h, 5 дана, 6 дана, 7 дана, 10 дана, 14 дана, 28 дана и 60 дана. Другу групу узорака чине исечци ткива срца, јетре и мозга из парафинских блокова старих до 30 година. Узорци ће бити груписани у групе од по 5 година (укупно 6 група), при чему ће свака група садржати узорке три ткива. Геномска ДНК ће бити изолована из припремљених узорака ткива фиксираних у 4 % непуферизованом као и у 10 % пуферизованом формалину и из депарафинисаних узорака различитих ткива. За изоловање молекула ДНК ћемо користити две различите методе: методу која се заснива на екстракцији фенол-хлороформ-изоамил алкохолем и методу која подразумева коришћење комерцијалног комплета (PureLink Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen). За одређивање степена фрагментације молекула ДНК користити ћемо ланчану реакцију полимеразе. Користићемо прајмере за 3 гена различите дужине: GPDH (150 bp), β actin (262 bp) и RPL4 (407 bp).

Планирана истраживања ће нам показати у ком степену је молекул ДНК очуван у здравим хуманим ткивима, која су укалупљена у парафинске блокове дуги низ година (до 30 година) и да ли се изолована ДНК може користити у форензичкој пракси. Такође ће нам показати које је ткиво најподесније, као и који је максимални временски период формалинске фиксације, како би се добио задовољавајући узорак за изолацију молекула ДНК.

3. Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације предлаже се Доц. Др Данијела Тодоровић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хумана генетика. Доц. др Данијела Тодоровић испуњава услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1. Компетентност ментора

Релевантне референце доц. др Данијела Тодоровић:

1. Vitošević K, Todorović D, Slović Ž, Živković Zarić R, Todorović M. Forensic genetics and genotyping. Ser J Exp Clin Res 2016; doi:10.1515/SJECR-2016-0074

2. Cocic D, Jovanovic S, Nisavic M, Baskic D, Todorovic D, Popovic S, Bugarcic Z, Petrovic B. New dinuclear palladium(II) complexes: Studies of the nucleophilic substitution reactions, DNA/BSA interactions and cytotoxic activity. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2017; 175: 67-79.
3. Keta O, Todorovic D, Bulat T, Cirrone P, Romano F, Cuttone G, Petrovic I, Ristic-Fira A. Comparison of human lung cancer cell radiosensitivity after irradiations with therapeutic protons and carbon ions. *Experimental biology and medicine*. 2017; 242 (10): 1015-1024
4. Deljanin M, Nikolic M, Baskic D, Todorovic D, Djurdjevic P, Zaric M, Stankovic M, Todorovic M, Avramovic D, Popovic S. Chelidonium majus crude extract inhibits migration and induces cell cycle arrest and apoptosis in tumor cell lines. *J Ethnopharmacol*. 2016;190:362-71
5. Bulat T, Keta O, Koricanac L, Zakula J, Petrovic I, Ristic-Fira A, Todorovic D. Radiation dose determines the method for quantification of DNA double strand breaks. *Anais da academia brasileira de ciencias*. 2016; 88 (1): 127-136
6. Milosevic V, Todorovic D, Sosic-Jurjevic B, Medigovic I, Pantelic J., Uscebrka G, Ajdzanovic V. The Effects of Estradiol and Human Chorionic Gonadotropin on Aeth Cells in Peripubertal Female Rats: a Histological and Stereological Study. *Archives of biological sciences*. 2014; 66 (1):143-148.
7. Milosevic V., Todorovic D, Velickovic M, Ristic N., Uscebrka G, Knezevic V, Ajdzanovic V. Immunohistomorphometric Features of Aeth Cells in Juvenile Rats After Treatment with Estradiol Or Human Chorionic Gonadotropin. *Journal of medical biochemistry*. 2012; 31 (1): 34-39.
8. Petrović I, Ristić-Fira A, Todorović D, Korićanac L, Valastro L, Cirrone P, Cuttone G. Response of a radioresistant human melanoma cell line along the proton spread-out Bragg peak. *Int J Radiat Biol* 2010; 86(9):742–751.
9. Todorović D, Petrović I, Todorović M, Cuttone G, Ristić-Fira A. Early effects of gamma rays and protons on human melanoma cell viability and morphology. *Journal of Microscopy* 2008; 232(3): 395-399.
10. Ristić-Fira AM, Todorović DV, Korićanac LB, Petrović IM, Valastro LM, Cirrone PGA, Raffaele L, Cuttone G. Response of a human melanoma cell line to low and high ionising radiation. *Ann NY Acad Sci*. 2007;1095:165-74.
11. Petrovic I, Ristic-Fira A, Todorovic D, Valastro L, Cirrone P, Cuttone G. Radiobiological analysis of human melanoma cells on the 62 MeV CATANA proton beam. *International journal of radiation biology*. 2006; 82(4): 251-265.

4. Научна област дисертације

Медицина. Ужа област: Судска медицина, форензичка генетика.

5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Оливера Милошевић-Ђорђевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Генетика, председник
2. Проф. др Слободанка Митровић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за уже научне области Патолошка анатомија, члан
3. Доц. др Оливер Стојковић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хумана генетика, члан

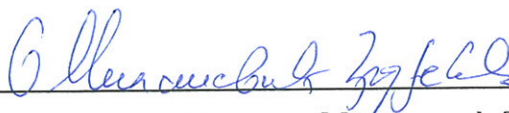
ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу увида у досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове др Катарине Витошевић, комисија закључује да кандидат испуњава све услове да приступи изради докторске дисертације.

Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а методологија јасна и прецизна. Ради се о оригиналном научном делу које има за циљ да испита утицај фиксације ткива у формалину и парафинског блока на степен фрагментације молекула ДНК и могућност примене изоловане ДНК у форензичкој пракси.

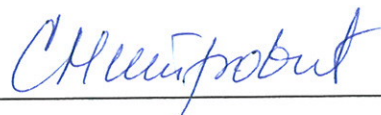
Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др Катарине Витошевић, под називом „Утицај формалина и парафинског блока на фрагментацију молекула ДНК у хуманим ткивима изузетих приликом извођења судскомедицинских обдукција“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ



Проф. др Оливера Милошевић-Ђорђевић,

редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
за ужу научну област Генетика, председник



Проф. др Слободанка Митровић,

ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
за ужу научну област Патолошка анатомија, члан



Проф. др Оливер Стојковић,

ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду
за ужу научну област Хумана генетика, члан

У Крагујевцу,

15.06.2018. године