

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Организација	19000 Крагујевац	15.01.2021	
Организација	05	493	

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-918/39 од 10.12.2020. године именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Сандре Николић под називом:

**„*In vivo* и *in vitro* испитивања биотоксичности полистиренских микро-
и наночестица “**

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Миодраг Стојковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика, председник;
2. **Доц. др Марина Милетић Ковачевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан;
3. **Проф. др Срђан Пешић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, 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

Дипломирани хемичар за истраживање и развој, Сандра Николић, рођена је 14.04.1972. године у Крагујевцу, завршила је основну школу „Милутин и Драгиња Тодоровић“ у Крагујевцу, средњу медицинску школу-општи смер „Сестре Нинковић“ у Крагујевцу. На Природно-математичком факултету Универзитета у

Крагујевцу- одсек хемија, дипломирала је 09.04.2009. године и стекла звање дипломирани хемичар за истраживање и развој. Докторске академске студије је уписала 2009. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Клиничка и експериментална фармакологија. Усмени докторски испит је положила 28.01.2014. године са оценом 8. Од 21.10.2009. године је запослена на Факултету медицинских наука као лаборант на Катедри за генетику. На Факултету медицинских наука у Крагујевцу завршила је обуку за Саветника за хемикалије код руководиоца проф. др сци. Драгана Миловановића, клиничког фармаколога. Укључена је у научно истраживачки рад на Факултету медицинских наука у Крагујевцу.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: *In vivo* и *in vitro* испитивања биотоксичности полистиренских микро- и наночестица

Предмет: Испитивање дејства полистиренских микро- и нанопартикула на ћелије *in vitro*, као и њиховог утицај на различите органске системе *in vivo* применом анималног модела.

Хипотезе:

1. Полистиренске честице имају цитотоксични ефекат.
2. Полистиренске честице оштећују ДНК.
2. Полистиренске честице имају способност продирања и акумулације у ткивима миша.
3. Полистиренске честице утичу на настанак промена у понашању експерименталних животиња

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, **Сандра Николић**, је као први аутор објавила рад у целини у часопису категорије М51 на једном од водећих светских језика, чиме је испунила услов за пријаву докторске дисертације:

1. **Nikolić S, Živanović S, Papić M, Gazdić Janković M, Stojković M, Ljujić B.** Nanoplastics as a potential environmental health factor: from molecular interaction to altered cellular function and human diseases. *SJECR* 2020; DOI: 10.2478/sjecr-2020-0049. **M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Производња пластике непрекидно расте последњих деценија и тренутно достиже око 350 милиона тона годишње, чиме се присуство пластике у нашем окружењу свакодневно повећава. Најчешће коришћена врста пластике је полистирен (енгл. *polystyrene*, PS), који настаје полимеризацијом стирена добијеног каталитичком дехидрогенацијом етилбензена. Полистирен се употребљава за израду лабораторијског прибора и посуђа, пипета, посуда за лекове итд. Још важнија је његова примена за производњу стиропора, материјала који се широко користи у производњи амбалаже за складиштење и паковање хране и производа, као и за производњу играчака, канцеларијског и грађевинског материјала. Као резултат једнократне употребе и интензивне производње, полистирен је међу пластичним масама водећи загађивач животне средине. Потпуна разградња полистирена у животној средини није могућа, већ се под утицајем физичких и хемијских процеса попут фотодеградације, оксидације, хидролизе и механичке дезинтеграције, овај материјал фрагментира до микрочестица и наночестица које се акумулирају у околини. У зависности од величине, поларитета и хемијских својстава нанопластика присутна у води, храни и ваздуху, може проћи кроз мукозне баријере дигестивног и респираторног тракта као и кроз оштећену кожу, продрети у циркулацију и узроковати директно оштећење ћелија и штетне системске ефекте. Међутим, веома је мали број студија у којима је испитан потенцијални механизам штетног дејства полистирена на здравље људи. Недавно је показано да полистиренске наночестице (енгл. *polystyrene nanoparticles*, PSNPs) мењају транскрипциони профил хуманих индукованих плурипотентних матичних ћелија као и преимплантационог људског ембриона. Изложеност овом типу нанопластике за последицу има промену експресије гена одговорних за нормалан развој ока и атриовентрикуларних валвула, диференцијацију неуралне кресте, и структуру екстрацелуларног матрикса. *Priehl* и сарадници су показали да PSNPs изазивају оксидативни стрес и повећавају продукцију слободних кисеоничних радикала и интерлеукина 6 и 8 у хуманим моноцитима.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај истраживања

Предложено истраживање може дати нове податке о утицају полистиренске пластике на генетички материјал, ћелијску структуру и вијабилност, као и на структуру и функцију ткива сисара. Како утицај овог типа пластике на људско здравље још није проучен добијени резултати могли би донети нова сазнања од велике важности.

Циљ истраживања

Основни циљ овог истраживања је да се испита дејство полистиренских микро- и нанопартикула на ћелије *in vitro*, као и њихов утицај на различите органске системе *in vivo* применом мишјег модела.

Специфични циљеви истраживања су следећи:

1. Испитати цитотоксично дејство полистиренских микро- и наночестица *in vitro*
2. Испитати генотоксично дејство полистиренских микро- и наночестица *in vitro*
3. Патохистолошком анализом испитати пенетрацију, дистрибуцију и акумулацију *per os* унетих полистиренских микро- и наночестица у ткивима миша
4. Испитати утицај полистиренских микро- и наночестица унетих *per os* на резултате бихевиоралних тестова мишева.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Објављен је мали број студија у којима је испитан потенцијални механизам штетног дејства полистирена на здравље људи. Резултати недавно публиковане студије показују да полистиренске наночестице (енгл. *polystyrene nanoparticles*, PSNPs) мењају транскрипциони профил хуманих индукованих плурипотентних матичних ћелија као и преимплантационог људског ембриона. Такође, показано је да PSNPs изазивају оксидативни стрес и повећавају продукцију слободних кисеоничних радикала и интерлеукина 6 и 8 у хуманим моноцитима. Међутим, утицај полистиренске нанопластике на генетички материјал, ћелијску структуру и вијабилност, као и на структуру и функцију ткива сисара још увек није испитан.

2.7. Метод истраживања

2.7.1. Врста студије

Истраживање представља експерименталну студију на ћелијама *in vitro* и животињама *in vivo*.

2.7.2. Наночестице

У истраживању ће се користити честице полистирена величине 40 и 200 nm (FluoroSpheres™, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Све суспензије честица ће пре примене у експериментима бити третиране у ултразвучном купатилу (15 min на 42 W/L).

Скенирајућа електронска микроскопија

Применом скенирајуће електронске микроскопије испитаће се изглед, облик и величина, као и просечни дијаметар (+/- nm) PSNPs које ће се користити у истраживању.

Зета потенцијал

Зета потенцијал (ζ) полистиренских нано- (40 nm) и микрочестица (200 nm) растворених у физиолошком раствору, дестилованој води и PBS (у концентрацији 4,7 $\mu\text{l/ml}$), биће мерен на температури од 25-24,7°C и изражен у mV. Мерењем ζ потенцијала добијених колоида одредиће се стабилност PS партикула.

2.7.3. Ћелије

Испитивање ефеката полистиренских микро- и наночестица *in vitro* биће спроведено на:

- лимфоцитима изолованим из периферне крви C57BL/6 мишева
- мононуклеарним ћелијама изолованим из слезине C57BL/6 мишева
- лимфоцитима изолованим из периферне крви здравих људи
- ћелијској линији хуманих феталних фибробласта плућа (MRC-5)
- ћелијској линији хуманих мезенхимских матичних ћелија периодонталног лигамента (MSC-PDL).

За култивацију наведених ћелија користиће се *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM) у који је додат *Fetal Bovine Serum*, *L-glutamine*, *penicillin/streptomycin* и неесенцијалне аминокиселине. Ћелије ће се узгајати у инкубатору на 37°C са 5% CO₂.

Испитивање цитотоксичног деловања полистиренских нано- и микрочестица

Изолација мононуклеарних ћелија из слезине миша

Након изолације слезине из C57BL/6 миша, ткиво ће биће опрано и уситњено маказицама у комплетном медијуму и притискано клипом шприца док се не претвори у

кашу. Добијена суспензија, у циљу разбијања агрегата, ће се провлачити кроз шприц и иглу од 19 G више пута. Добијени садржај ће се пропустити кроз ћелијско сито. Суспензија ће се центрифугирати на 200g 10 минута, након одливања супернатанта талог ће се ресуспендовати у лизинг раствору (0,15 M NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 0,1 mM EDTA) и инкубирати 5 минута на собној температури уз повремено мешање. Након инкубације садржај ће се центрифугирати на 200g 10 минута, поново опрати у медијуму и ресуспендовати у одговарајућој запремини медијума.

Иzolовани мишји спленоцити ће се користити за испитивање цитотоксичног деловања полистиренских микро- и наночестица 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид (МТТ) тестом, *Xcelligence real time cell analysis* (RTCA анализом) и проточном цитометријом.

МТТ тест

МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид) тест ће бити коришћен за испитивање вијабилности ћелија третираних PS партикулама. У метаболички активним ћелијама, МТТ се редукује до љубичастих кристала формаза. Спленоцити ће бити изложени PS честицама 24 или 72 сата у концентрацији 0,47 односно 4,7 μl/ml. Након истека третмана додаће се МТТ раствор. Плоче ће се инкубирати 4 часа. Оптичка густина (OD) одредиће се на таласној дужини од 492 nm, на ELISA читачу *Rayto RT-6100*. Процент вијабилних ћелија добиће се када се апсорбанца третираних ћелија подели апсорбанцом контролних (нетретираних) ћелија и помножи са 100.

RTCA

Цитотоксичност PS партикула мериће се у реалном времену применом *Xcelligence real time cell analysis* (RTCA) система. Првог дана ће се у плочу са златним нитима поставити спленоцити миша (200 000 ћелија по бунару). По истеку 24-часовне инкубације спленоцита, у одговарајуће бунарчиће додаће се PS честице (дијаметра 40 односно 200 nm) у концентрацији 0,47 и 4,7 μl/ml и пратиће се ћелијски индекс наредних 48-72 сата.

Анализа третираних спленоцита обојених *Annexin*-ом V и пропиридијум јодидом проточном цитометријом

Annexin V-FITC је флуоресцентна проба која се везује за фосфатидил серин, изложен на ћелијској мембрани. Пропиридијум јодид (PI) се везује за ДНК присутну у ћелији само уколико је интегритет ћелијске мембране нарушен. Изоловани спленоцити

миша ће бити култивисани у присуству PS честица (дијаметра 40 односно 200 nm) у концентрацији 0,47 и 4,7 $\mu\text{l/ml}$ у трајању од 24 сата. Ћелије ће након истека третмана бити обојене *Annexin*-ом V и пропидијум јодидом, а затим анализирани проточном цитометријом. Анализом ће се дефинисати: *Annexin* V (-) и PI (-) као живи спленоцити, *Annexin* V (+) и PI (-) као спленоцити у раним фазама апоптозе, а *Annexin* V (+); PI (+) као спленоцити у касним фазама апоптозе.

HE и Giemsa бојење

Применом *Hematoxylin-Eosin* (HE) и *Giemsa* бојења испитаће се утицај PS нано- и микрочестица на настанак морфолошких промена као и на индукцију апоптозе MRC5 односно MSC-PDL.

Ћелије ће бити засејане на покровним стакалцима у комплетном медијуму у плочи са 24 бунара и инкубирани са PS партикулама (дијаметра 40 и 200 nm) у концентрацијама 0,47 и 4,7 $\mu\text{g/ml}$ у трајању од 24 сата. После истека инкубације, уклониће се медијум и на ћелије сваког бунара ће се додати 150 μl HE раствора или *Giemsa*-е. Третман бојама ће трајати 1 минут, након чега ће се HE односно *Giemsa* пажљиво уклонити, а вишак боје испрати два пута са 500 μl PBS-а. Покровна стакалца са обојеним ћелијама ће се затим пренети на предметна стакла на које је претходно сипано по 20 μl DPX медијума. Анализа плочица се ће извршити уз помоћ микроскопа *Nikon E50i*.

Испитивање генотоксичности полистиренских нано- и микро честица Комет тестом

Лимфоцити ће бити изоловани из хепаринизоване крви мишева и здравих донора уз помоћ *Histopaque-1077* и третиран полистиренским микро- и наночестицама (дијаметра 40 односно 200 nm) у две различите концентрације (0,47 и 4,7 $\mu\text{g/ml}$) и инкубирани пола сата на 37 °C.

Мишји спленоцити, MRC5 односно MSC-PDL ће бити засејане у комплетном медијуму у плочи са 24 бунара и третиране PS честицама (дијаметра 40 односно 200 nm) у концентрацијама 0,47 и 4,7 $\mu\text{g/ml}$ у трајању од 24 сата у инкубатору на 37 °C са 5% CO₂. После инкубације, ћелије ће бити трипсинизоване и центрифугиране на 580g 2 минута.

Негативна контрола (нетретиране ћелије) и позитивне контроле (митомицин C и H₂O₂) ће бити постављене паралелно са третманима.

Добијене суспензије хелија третиране полистиренском пластиком ће се затим помешати са 100 μ l 1% агарозе (*low melting point agarose* - LMPA), садржај ће се ресуспендовати и наносити на обележене предметне плочице преко ког се стављају покровне љуспице. Плочице се држе на леду неколико минута, са којих се скидају покровне љуспице. Такве предметне плочице ће се прелити хладним лизирајућим раствором (2,5 М NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, 1% triton X-100, 10% DMSO, pH 10.0) и оставити 2 сата у фрижидеру. Након тога, плочице ће се извадити из лизирајућег раствора и прелити хладним пуфером за електрофорезу (110М NaOH и 200 mM EDTA, pH>13.0) у којем стоје пола сата. Затим ће се укључити електрофореза у трајању од 30 минута на 25V и 300 mA. Неутрализација плочица ће се вршити након завршене електрофорезе неутралишућим пуфером (0,4 М Tris, pH 7,5). Поступак ће се поновити три пута у размаку од по 5 минута. Поступак бојења се ће остварити коришћењем етидијум бромида (50 μ l). Цео поступак комет теста ће се спровести у мраку како би се спречило додатно оштећење ДНК.

Анализа плочица се ће извршити уз помоћ флуоресцентног микроскопа (Nikon E50i) на увећању 400x и са сваке плочице се броји 100 хелија. Индекс генетичког оштећења (GDI) ће се израчунати уз помоћ формуле:

$$\text{GDI} = \text{Class1} + 2 \times \text{Class2} + 3 \times \text{Class3} + 4 \times \text{Class4} / \text{Class0} + \text{Class1} + \text{Class2} + \text{Class3} + \text{Class4}.$$

2.7.4. Експерименталне животиње

У експерименталној студији ће бити коришћени мишеви соја C57BL/6, старости од 8 до 10 недеља, добијени из виваријума Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Све планиране процедуре одобрио је Етички комитет Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (Етичко одобрење број 01-11876/1 од 11.10.2019).

2.7.5. Узорковање

Животиње ће бити распоређене у следеће експерименталне групе:

E1: C57BL/6 мишеви мушког пола, којима ће *per os* путем воде бити апликоване PS нано- и микропартикуле (дијаметра 40nm и 200nm) у дози од 0,1 mg/по мишу/дневно, у трајању од 4 недеље (n=15)

E2: C57BL/6 мишеви женског пола, којима ће *per os* путем воде бити апликоване PS нано- и микропартикуле (дијаметра 40 и 200nm) у дози од 0,1 mg/по мишу/дневно, у трајању од 4 недеље (n=15)

K1: C57BL/6 мишеви мушког пола, који ће *ad libitum* уносити чисту воду (n=15)

K1: C57BL/6 мишеви женског пола, који ће *ad libitum* уносити чисту воду (n=15)

Анимални бихевиорални тестови

За процену степена анксиозности експерименталних животиња након завршеног третмана полистиренским честицама користиће се тест отвореног поља (анализираће се број улазака у централну зону и укупно време проведено у централној зони, укупни пређени пут и укупно време кретања, број усправљања) и тест уздигнутог крестастог лавиринта (анализираће се укупно време проведено у крацима и број улазака у отворене краке, укупни пређени пут и укупно време кретања, број нагињања и број усправљања), који ће трајати по 5 минута.

За процену степена депресивности животиња након примене PS нано- и микропартикула користиће се тест качења о реп (анализираће се време до појаве прве имобилности, број епизода имобилности, укупно време имобилности и просечно трајање епизоде имобилности животиње), који ће трајати 6 минута. Видео записи ће се обрадити софтвером *EthoVision XT, Noldus Information Technology, the Netherlands*.

Квантитативна реакција ланчане полимеризације у реалном времену

(Quantitative Real-time PCR, qRtPCR)

Након хомогенизације хипокампуса мишева приступиће се изолацији укупне рибонуклеинске киселине (РНК) из узорка применом реагенса према протоколу произвођача. Од 1 μ g укупне РНК синтетисаће се комплементарна ДНК применом одговарајућих китова према упутствима произвођача у укупној запремини од 20 μ l. 5 μ l реакционе смеше биће инкубирано са “*PCR master mix*” који садржи дволанчану боју за ДНК у укупној запремини од 50 μ l. Након тога ће се употребити одговарајући прајмери за qRtPCR. Све реакције биће спроведене са почетним преинкубационим периодом (3 минута на 93°C), а затим ће бити спроведено по 40 циклуса од једног минута на 93°C, једног минута на 55°C и једног минута на 72°C. Подаци ће бити нормализовани према вредностима експресије β -актина.

Конфокална микроскопија

Након завршеног третмана флуоресцентно обележеним PS честицама (4 недеље), експерименталне животиње ће бити жртвоване цервикалном дислокацијом, након чега ће им се изоловати органи за конфокалну микроскопију. Конфокалном микроскопијом визуализоваће се пенетрација, акумулација и дистрибуција флуоресцентно обележених PS нано- и микропартикула у различитим органским системима миша.

2.7.6. Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле: Третман ћелија полистиренским честицама *in vitro*; третман мишева полистиренским честицама путем пијаће воде *in vivo*.

Зависне варијабле:

- параметри вијабилности ћелија
- параметри апоптозе ћелија
- индекс генетичког оштећења
- интензитет пенетрације и акумулације полистиренских наночестица у ткивима миша
- број улазака у централну зону, укупно време проведено у централној зони, укупни пређени пут, укупно време кретања и број усправљања у отвореном пољу
- укупно време проведено у крацима, број улазака у отворене краке, укупни пређени пут, укупно време кретања, број нагињања и број усправљања у уздигнутом крстастом лавиринту
- време до појаве прве имобилности, број епизода имобилности, укупно време имобилности и просечно трајање епизоде имобилности животиње током качења о реп.

2.7.7. Снага студије и величина узорка

За *in vitro* истраживавање величина узорка израчуната на основу података о концентracији наночестица Ag у студији сличног дизајна. Студијски узорак је израчунат узимајући алфа (α) од 0,05 и снагу студије од 0,80 за Т-тест (два независна узорка), упоређујући групе између себе (у оба смера), према статистичком програму *G*Power 3*. На основу претпоставке која захтева највећи узорак, односно очекиване најмање разлике у испитиваним параметрима између група, утврђен је број *in vitro* тестова и он износи три за сваку од група.

За *in vivo* величина узорка израчуната је на основу података о акумулацији микропартикула код мишева који су третирани микропартикулама 4 недеље у студији сличног дизајна. Студијски узорак је израчунат узимајући алфа (α) од 0,05 и снагу студије од 0,80 за Т-тест (два независна узорка), упоређујући групе између себе (у оба смера), према статистичком програму *G*Power 3*. На основу претпоставке која захтева највећи узорак, односно очекиване најмање разлике у испитиваним параметрима

између група, утврђен је број мишева и износи 15 за сваку од група. За потребе овог истраживања биће укључене четири групе од по 15 мишева, укупно 60 мишева.

2.7.8. Статистичка анализа

Подаци ће бити анализирани коришћењем статистичког програма SPSS верзија 20. Пре статистичке обраде података, прво биће испитано да ли добијене вредности имају нормалну расподелу (величина узорка одређује који ћемо тест користити за ту проверу). Ако је број анализираних вредности већи од 50 користимо *Kolmogorov-Smirnov* тест, а уколико је мањи од 50 за проверу користимо *Shapiro-Wilk* тест. Уколико вредности имају нормалну расподелу користе се параметарски *Student*-ово *t* тест, док у случају када вредности немају нормалну расподелу биће коришћен непараметарски *Mann-Whitney*-ев тест. Резултати експеримента биће изражени као средња вредност \pm стандардна грешка (енгл. *Standard Error*, SE). За статистички значајну разлику у добијеним вредностима између група сматраће се када је $p < 0,05$, док је статистички веома значајна разлика када је $p < 0,01$.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да полистиренске нано- и микро честице имају цитотоксични ефекат и да изазивају оштећења ДНК. Такође, очекује се да ове честице имају способност продирања и акумулације у ткивима миша.

Ово истраживање може дати нове податке о утицају полистиренске пластике на генетички материјал, ћелијску структуру и вијабилост, као и на структуру и функцију ткива сисара. Како утицај овог типа пластике на људско здравље још није проучен добијени резултати могли би донети нова сазнања од велике важности.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Производња пластике непрекидно расте последњих деценија, чиме се присуство пластике у нашем окружењу свакодневно повећава. Најчешће коришћена врста пластике је полистирен (енгл. *polystyrene*, PS). Полистирен се употребљава за израду лабораторијског прибора и посуђа, пипета, посуда за лекове, производњу стиропора, као и за производњу играчака, канцеларијског и грађевинског материјала. Предложено истраживање има за циљ да испита утицај полистиренске пластике на генетички

материјал, ћелијску структуру и вијабилност, као и на структуру и функцију ткива сисара. Истраживање ће бити спроведено по типу експерименталне студије на ћелијама *in vitro* и животињама *in vivo*. Цитотоксично и генотоксично дејство полистиренских микро- и наночестица *in vitro* одређиваће се применом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолијум бромид (МТТ) теста, *Xcelligence real time cell analysis* (RTCA анализом), проточне цитометрије и Кошет теста. Патохистолошком анализом испитиваће се пенетрација, дистрибуција и акумулација *per os* унетих полистиренских микро- и наночестица у ткивима миша. За процену степена анксиозности и депресивности експерименталних животиња након примене PS нано- и микропартикула користиће се бихевиоралних тестови. Очекујемо да полистиренске нано- и микро честице имају цитотоксични ефекат и да изазивају оштећења ДНК. Такође, очекујемо да ове честице имају способност продирања и акумулације у ткивима миша.

3. Предлог ментора

Због мултидисциплинарности ове студије за ментора ове докторске дисертације предлаже се проф. др Биљана Љујић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика и коментор доц. др Марина Газдић Јанковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика. Проф. др Биљана Љујић и доц. др Марина Газдић Јанковић испуњавају услове за менторе докторских дисертација у складу са стандардом 9 за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама. Истовремено поседујући одговарајуће стручне и научне компетенције које су у вези са предложеном темом.

3.1. Компетентност ментора

Радови проф. др Биљана Љујић

1. Bojic S, Falco MM, Stojkovic P, **Ljujic B**, Jankovic MG, Armstrong L, Markovic N, Dopazo J, Lako M, Bauer R, Stojkovic M. Platform to study intracellular polystyrene nanoplastic pollution and clinical outcomes. *Stem Cells*. 2020; 38(10):1321-5.
2. Petrovic I, Pejnovic N, **Ljujic B**, Pavlovic S, Kovacevic MM, Jeftic I, Djukic A, Dragicin N, Andjic M, Arsenijevic N, Lukic ML, Jovicic N. Overexpression of

Galectin 3 in Pancreatic β Cells Amplifies β -Cell Apoptosis and Islet Inflammation in Type-2 Diabetes in Mice. *Front Endocrinol.* 2020; 7:11:30.

3. Stankovic M, **Ljujic B**, Babic S, Maravic-Stojkovic V, Mitrovic S, Arsenijevic N, Radak D, Pejnovic N, Lukic ML. IL-33/IL-33R in various types of carotid artery atherosclerotic lesions. *Cytokine.* 2019; 120:242-50.
4. Kovacevic MM, Pejnovic N, Mitrovic S, Jovicic N, Petrovic I, Arsenijevic N, Lukic ML, **Ljujic B**. Galectin-3 deficiency enhances type 2 immune cell-mediated myocarditis in mice. *Immunol Res.* 2018; 66:491-502.
5. Pavlovic S, Petrovic I, Jovicic N, **Ljujic B**, Miletic Kovacevic M, Arsenijevic N, Lukic ML. IL-33 reverts MLD-STZ Induction of Diabetes and Attenuate Insulinitis in Prediabetic NOD Mice. *Front Immunol.* 2018; 9:2646.

Радови доц. др Марина Газдић Јанковић

1. Bojic S, Falco MM, Stojkovic P, Ljujic B, **Jankovic MG**, Armstrong L, Markovic N, Dopazo J, Lako M, Bauer R, Stojkovic M. Platform to study intracellular polystyrene nanoplastic pollution and clinical outcomes. *Stem Cells.* 2020; 38(10):1321-5.
2. Volarevic V, Markovic BS, **Jankovic MG**, et al. Galectin 3 protects from cisplatin-induced acute kidney injury by promoting TLR-2-dependent activation of IDO1/Kynurenine pathway in renal DCs. *Theranostics.* 2019; 9(20):5976-6001.
3. Volarevic V, Djokovic B, **Jankovic MG**, et al. Molecular mechanisms of cisplatin-induced nephrotoxicity: a balance on the knife edge between renoprotection and tumor toxicity. *J Biomed Sci.* 2019; 26(1):25.
4. **Gazdic M**, Simovic Markovic B, Vucicevic L, Nikolic T, Djonov V, Arsenijevic N, Trajkovic V, Lukic ML, Volarevic V. Mesenchymal stem cells protect from acute liver injury by attenuating hepatotoxicity of liver NKT cells in iNOS and IDO dependent manner. *J Tissue Eng Regen Med.* 2018;12(2):e1173-e1185.
5. **Gazdic M**, Markovic BS, Arsenijevic A, Jovicic N, Acovic A, Harrell CR, Fellabaum C, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, Volarevic V. Crosstalk between mesenchymal stem cells and T regulatory cells is crucially important for the attenuation of acute liver injury. *Liver Transpl.* 2018;24(5):687-702.

3. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална фармакологија.

4. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Миодраг Стојковић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика; председник;
2. Доц. др Марина Милетић Ковачевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан;
3. Проф. др Срђан Пешић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, члан.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ


На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове, Комисија закључује да кандидат Сандра Николић испуњава све услове прописане Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука да приступи изради докторске дисертације.

Комисија је утврдила да се ради о оригиналном научном делу које има за циљ да испита дејство полистиренских микро- и нанопартикула на ћелије *in vitro*, као и њихов утицај на различите органске системе *in vivo* применом анималног модела. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија је јасна.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Сандре Николић: „*In vivo* и *in vitro* испитивања биотоксичности полистиренских микро- и наночестица“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:


1. **Проф. др Миодраг Стојковић**, редовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика; председник;



2. **Доц. др Марина Милетић Ковачевић**, доцент Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија,
члан;



3. **Проф. др Срђан Пешић**, редовни професор Медицинског факултета
Универзитета у Нишу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, члан;



У Крагујевцу, _____ 2020. године