

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ПРИМЉЕНО 17-05-17			
Органи	Број	Година	Број документа
05	5969/1-1		

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-260/37 од 08.03.2017. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **асист. др Јасмина Нурковића** под називом:

“Утицај ласера ниске снаге и електромагнетног поља на морфологију, пролиферацију, диференцијацију и старење хуманих мезенхималних матичних ћелија изолованих из масног ткива“

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. **Проф. др Владислав Воларевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;
2. **Проф. др Данило Војводић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан;
3. **Доц. др Марија Миловановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан.

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

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **асист. др Јасмин Нурковић** испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Асист. др Јасмин Нурковић рођен је 11.09.1986. године у Тутину, у Србији. Медицински факултет у Београду завршава 2011. године, са просечном оценом 9,69. Током студија добитник више награда и признања. На Државном универзитету у Новом Пазару ради од 01.07.2011. као сарадник у настави, а од 01.07.2012. као асистент на Департману за биомедицинске науке и као истраживач у Лабораторији за матичне ћелије. Ангажован је на пројекту основних истраживања Министарства науке Републике Србије бр. 175061 „Антиоксидативна заштита и потенцијал за диференцијацију и регенерацију мезенхималних матичних ћелија из различитих ткива током процеса старења“, чији је руководилац проф. др Милица Ковачевић Филиповић. Октобра 2011. године уписује докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје: Матичне ћелије у биомедицинским наукама. 17.07.2013. године полаже усмени докторски испит оценом 10.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске дисертације

Наслов: „Утицај ласера ниске снаге и електромагнетног поља на морфологију, пролиферацију, диференцијацију и старење хуманих мезенхималних матичних ћелија изолованих из масног ткива“

Предмет: Ласер ниске снаге (енгл. *low-level laser* – LLL) и електромагнетно поље (енгл. *electromagnetic field* - EMF), убрзавају раст и пролиферацију ћелија, чиме постижу свој терапијски ефекат. С обзиром да још увек није познат њихов утицај на матичне ћелије, испитаће се како примена ова два агенса утиче на морфолошке карактеристике, раст, пролиферацију, диференцијацију и старење мезенхималних матичних ћелија (енгл. *mesenchymal stem cells* – MSCs).

Хипотезе: Примена LLL-а и EMF-а утиче на одрживост (енгл. *viability*), морфологију, раст, пролиферацију, диференцијацију и старење MSCs. Утицај ова два физикална терапијска модалитета може значајно убрзати раст, пролиферацију и диференцијацију ових ћелија, без утицаја на одрживост и старење. Промене у морфологији, пре свега величини, MSCs из хуманог масног ткива (енгл. *human adipose tissue-derived*

mesenchymal stem cells – hAT-MSCs), ће бити од значаја за терапијску примену ових ћелија у клиничким условима.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, асист. др Јасмин Нурковић, је објавио рад у целини у часопису категорије M21, у коме је први аутор, чиме је стекао услов за пријаву докторске дисертације.

1. **Nurkovic J, Volarevic V, Lako M, Armstrong L, Arsenijevic N, Stojkovic M.** Aging of stem and progenitor cells: mechanisms, impact on the therapeutic potential and rejuvenation. *Rejuvenation Research* 2016; 19(1):3-12. **M21**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Регенеративна медицина је медицинска област која комбинује сазнања, технике и вештине из молекулске и ћелијске биологије, хемије, клиничке медицине, биомедицинског инжењеринга и науке о материјалима, са циљем да поправи и обнови функцију органа која је изгубљена због урођених дефеката, оштећења, болести и старости. Четири главна приступа регенеративне медицине су: ћелијска терапија, генска терапија, трансплантација и ткивни инжењеринг. Претходна експериментална и клиничка истраживања показала су ефикасност и сигурност ових процедура.

Матичне ћелије су неспецијализоване ћелије организма које имају способност самообнављања и диференцирања у ћелије сва три кличина листа. Оне имају важну улогу у ембрионалном развићу и органогенези (ембрионалне и феталне матичне ћелије), као и у хомеостази и регенерацији ткива (адултне матичне ћелије). MSCs су адултне матичне ћелије које се, због својих предности у изолацији и имунској толеранцији, најчешће користе у експерименталним и клиничким студијама. Масно ткиво је један од најлакше доступних извора ових ћелија.

Слабо прихватање (енгл. *poor engraftment*), кратко преживљавање и старење MSCs су главна ограничења у клиничкој примени ових ћелија. У циљу да се ова ограничења што више смање и допринесе бољем и бржем опоравку ткивне функције, последњих година принципи регенеративне медицине и рехабилитације се обједињују у нову медицинску област – регенеративну рехабилитацију. Осим хемијских фактора (фактори раста, хормони и цитокини) за које се зна да могу утицати на морфологију, раст,

пролиферацију и диференцијацију матичних ћелија, све већи значај имају физички фактори у побољшању енграфтмента ових ћелија. До данас су објављени резултати који показују да LLL и EMF, као терапијски физикални модалитети, утичу на различите биолошке процесе и доприносе оздрављењу. Међутим, њихово терапијско дејство још увек није потпуно разјашњено, а заједнички утицај ових агенса на MSCs уопште није познат.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај истраживања се огледа у новим сазнањима о улози физичких фактора, као што су LLL и EMF, на вијабилност, морфологију, раст, пролиферацију, диференцијацију и старење MSCs. У складу са основним циљем поставили смо следеће експерименталне задатке:

- Прикупљање узорака хуманог поткожног масног ткива, дигестија узорака, прање и бројање добијених ћелија, изолација и карактеризација, култивација и диференцијација hAT-MSCs у адипоците, остеобласте и хондробласте.
- Хистолошком анализом утврдити да ли примена LLL-а и EMF-а утиче на вијабилност, мења морфологију, убрзава раст и пролиферацију MSCs.
- Испитати да ли примена LLL-а и EMF-а убрзава и побољшава диференцијацију MSCs у адипоците, остеобласте и хондробласте.
- Утврдити да ли примена LLL-а и EMF-а утиче на процес старења MSCs.

Ови резултати биће основа за третман матичних ћелија овим агенсима пре клиничке апликације и третман пацијента овим агенсима након добијања матичних ћелија, у циљу бољег прихватања апликованих матичних ћелија.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Последњих неколико година, значајно се повећава употреба LLL-а и EMF-а у физикалној медицини, али и у хирургији, онкологији и дерматовенерологији. Нова открића показују да EMF ниске фреквенце (0-100 Hz), може утицати на биолошке функције, као што су ћелијска диференцијација и експресија гена. Након што узрокује ослобађање ћелијских фактора раста, EMF побољшава међућелијску интеракцију и убрзава диференцијацију ћелија. LLL има сличан ефекат на ћелијску судбину.

Фотобиомодулациони ефекат LLL доводи до повећања нивоа јона Ca^{2+} у цитоплазми, активира се синтеза протеина и стимулише ћелијски раст, деоба и диференцијација. Побољшање капацитета матичних ћелија за пролиферацију и диференцијацију су један од кључних фактора за напредовање ћелијске терапије и ткивног инжењеринга. Знајући да свако ткиво, у својим периваскуларним нишама, поседује сопствене матичне ћелије, испитивање утицаја LLL-а и EMF-а на ове ћелије могло би да објасни убрзано излечење ткива након примене ова два физикална агенса. Осим тога, додатно објашњење овог ефекта било би значајно због евентуалне примене LLL-а и EMF-а пре или после клиничке апликације MSCs. С обзиром да постоји мало информација о ефектима LLL-а и EMF-а на матичне ћелије, а да уопште не постоје подаци о њиховом заједничком утицају на MSCs, ово истраживање би представљало значајан допринос у регенеративној рехабилитацији.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Експериментална студија на материјалу хуманог порекла *in vitro*.

2.7.2. Популација која се истражује

У експериментима ће се користити hAT-MSCs 12 особа старости 18-65 година. Учешће у истраживању је на добровољној бази. Испитаницима ће, након давања информација о планираним експериментима и писане сагласности за учешће у експериментима, током хируршке интервенције, која је раније заказана у циљу решавања здравственог проблема, бити узет узорак поткожног масног ткива из регије на којој је већ направљен хируршки рез.

Ex vivo и *in vitro* експерименти ће се спровести у складу са одредбама Етичког комитета Државног универзитета у Новом Пазару и Опште болнице Нови Пазар. Сва истраживања биће спроведена у складу са етичким принципима датим у Декларацији у Хелсинкију (*Helsinki Declaration*). Биће предузете све мере да се заштити приватност учесника и тајност њихових личних података.

2.7.3. Узорковање

hAT-MSCs ће методом прости рандомизације бити распоређене у следеће групе:

- К (контролна група): 18×10^5 hAT-MSCs које неће бити третиране LLL-ом и EMF-ом.
- E1 (експериментална група 1, hAT-MSCs третиране LLL-ом): 18×10^5 hAT-MSCs које ће бити третиране LLL-ом од 7 до 28 дана, таласном дужином ласерског снопа од 808 nm, различитом енергијом зрачења (интензитетом), снагом и густином снаге LLL-а.
- E2 (експериментална група 2, hAT-MSCs третиране EMF-ом): 18×10^5 hAT-MSCs које ће бити третиране EMF-ом од 7 до 28 дана, различитом фреквенцом и интензитетом EMF-а.
- E3: (експериментална група 3, hAT-MSCs третиране LLL-ом и EMF-ом): 18×10^5 hAT-MSCs које ће бити третиране LLL-ом и EMF-ом од 7 до 28 дана, таласном дужином ласерског снопа од 808 nm, различитом енергијом зрачења (интензитетом), снагом и густином снаге LLL-а и различитом фреквенцом и интензитетом EMF-а.

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

- Независне варијабле: Уређај за електромагнетно поље (*EkoMedico, Electronic Design*, Београд, Србија), уређај за ласер ниске снаге (*EkoMedico-Laser, Electronic Design*, Београд, Србија).
- Зависне варијабле: вијабилност, пролиферација, фрактална димензија, диференцијација hAT-MSCs и активност ензима β -галактозидазе.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Величина узорка је израчуната на основу података о броју ћелија које су третиране различитим хемијским и физичким факторима, публикованих у студијама сличног дизајна. Студијски узорак је израчунат узимајући $\alpha=0.05$ и снагу студије од 0.8 за *Student's t* тест (два независна узорка), поредећи групе међу собом (у оба смера), према статистичком програму *G*Power3*. На основу претпоставке која захтева највећи узорак, односно очекиване најмање разлике у испитиваним параметрима између експерименталних и контролних група (за ћелије третиране електромагнетним пољем, $SE=0.1$), утврђен је број ћелија према групама и он износи 18×10^5 за сваку од група.

2.7.6. Статистичка обрада података

Подаци ће бити приказани као Mean \pm SD. За анализу података користиће се параметријски или непараметријски тестови у односу на нормалност расподеле, која ће бити одређена *Shapiro-Wilk* тестом. Статистички значајна разлика у добијеним вредностима између група износиће $p < 0.05$, док ће статистички веома значајна разлика бити $p < 0.01$. За статистичку обраду свих података користиће се SPSS пакет, верзија 20.0. *Microsoft Excel* ће се користити за креирање графикона и табела.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се на основу доступне литературе да ће примена LLL-а и EMF-а на hAT-MSCs значајно убрзати раст, пролиферацију и диференцијацију ових ћелија, без утицаја на одрживост и старење. Ови резултати биће основа за третман матичних ћелија овим агенсима пре клиничке апликације и третман пацијента овим агенсима након добијања матичних ћелија, у циљу бољег прихватања апликованих матичних ћелија.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Слабо прихватање, кратко преживљавање и старење MSCs су главна ограничења у клиничкој примени ових ћелија. У циљу да се ова ограничења што више смање и допринесе бољем и бржем опоравку ткивне функције, последњих година принципи регенеративне медицине и рехабилитације се обједињују у нову медицинску област – регенеративну рехабилитацију. До данас су објављени резултати који показују да LLL и EMF, као терапијски физикални модалитети, утичу на различите биолошке процесе и доприносе оздрављењу. Међутим, њихово терапијско дејство још увек није потпуно разјашњено, а заједнички утицај ових агенса на MSCs уопште није познат. Циљ истраживања ће бити да се испита како примена ова два агенса утиче на морфолошке карактеристике, раст, пролиферацију, диференцијацију и старење мезенхималних матичних ћелија. Анализираће се одрживост, морфологија, раст, пролиферација, диференцијација и старења hAT-MSCs добијених од 12 особа старости од 18 до 65 година. Очекивања су да ће примена LLL-а и EMF-а на hAT-MSCs значајно убрзати раст, пролиферацију и диференцијацију ових ћелија, без утицаја на одрживост и старење. Повећање величине hAT-MSCs ће бити од значаја за терапијску примену ових ћелија у клиничким условима. Зато ће се третмани LLL-ом и EMF-ом моћи користити у

ћелијском инжењерингу, јер ће моћи значајно да мењају морфологију, убрзавају пролиферацију и диференцијацију матичних ћелија, без нежељених ефеката.

3. Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације се предлаже **проф. др Зана Долићанин**, ванредни професор Департмана за биомедицинске науке Државног универзитета у Новом Пазару за ужу научну област Рехабилитација. Проф. др Зана Долићанин поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и 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

Радови проф. др Зане Долићанин који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Nurković J, Zaletel I, Nurković S, Hajrović Š, Mustafić F, Isma J, Jurišić Škevin A, Grbović V, Kovačević Filipović M, **Dolicanin Z.** Combined effects of electromagnetic field and low-level laser increase proliferation and alter the morphology of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *Lasers in Medical Science*, 2017; 32(1):151-160. doi: 10.1007/s10103-016-2097-2 (**M21; IF 2.461**)
2. Nurkovic J, **Dolicanin Z.**, Mustafic F, Mujanovic R, Memic M, Grbovic V, Jurisic Skevin A, Nurkovic S. Mesenchymal stem cells in regenerative rehabilitation. *Journal of Physical Therapy Science* 2016; 28(6): 1943-1948. doi: 10.1589/jpts.28.1943 (**M23; IF 0.392**)
3. Nurkovic J, Jovasevic Lj, Konicanin A, Bajin Z, Parezanovic Ilic K, Grbovic V, Jurisic Skevin A, **Dolicanin Z.** Treatment of trochanteric bursitis: our experience. *Journal of Physical Therapy Science* 2016; 28(7): 2078–2081. doi: 10.1589/jpts.28.2078. (**M23; IF 0.392**)
4. **Dolicanin Z.**, Bogdanovic D, Lazarevic K. Changes in stroke mortality trends and premature mortality due to stroke in Serbia 1992-2013. *Int journal of public health*, 2016, 61(1);131-137. (**M23; IF 2,7**)
5. Stefanovic V, Cukuranovic R, **Dolicanin Z.**, Cukuranovic J, Stojnev S, Bogdanovic D, Kocic G. Placental growth factor and placental protein 13 in patient with Balcan endemic nephropathy, a worldwide disease. *Ren Fail.* 2015; 37(7):1145-1148. (**M23; IF 0,944**)

6. Jankovic-Velickovic Lj, Ristic-Petrovic A, Stojnev S, **Dolicinin ZC**, Hattori T, Sugihara H, Mukaisho K, Stojanovic MR, Stefanovic VB. Angiogenesis in upper tract urothelial carcinoma associated with Balkan endemic nephropathy. *International Journal Of Clinical And Experimental Pathology*, 2012; 5(7): 674-683. (M22; IF 2,249)
7. Hadziavdic V, Marjanovic D, Pojskic N, Hadziselimovic R, Bajrovic K, **Dolicinin ZC**, Eminovic I. Diversity of Nuclear Short Tandem Repeat Loci in Representative Sample of North-Eastern Bosnian and Herzegovina Population. *Genetika-Belgrade*, 2012; 44(3):521-536. (M23; IF 0,372)
8. Miric DJ, Kistic BM, Zoric LD, **Dolicinin ZC**, Mitic RV, Miric M The Impact of Senile Cataract Maturity on Blood Oxidative Stress Markers and Glutathione-Dependent Antioxidants: Relations with Lens Variables. *Journal Of Medical Biochemistry*, 2012;.31(3): 184-192. (M23; IF 1,084)
9. **Dolicinin ZC**, Jankovic-Velickovic Lj, Djordjevic B, Visnjic MM, Pesic I, Ristic A, Marjanovic VG . Expression of regulatory proteins and proliferative activity in relation to phenotypic characteristics of upper urothelial carcinoma. *Vojnosanitetski pregled*, 2011; 68(7): 567-574. (M23; IF 0,179)
10. Jankovic-Velickovic Lj, **Dolicinin ZC**, Hattori T, Pesic I, Djordjevic B, Stojanovic MR Stankovic JJ, Visnjic MM, Stefanovic VB. Divergent Squamous Differentiation in Upper Urothelial Carcinoma-Comparative Clinicopathological and Molecular Study. *Pathology Onkology Research*. 2011; 17(3):535-539. (M23; IF 1,213)

4. Научна област дисертације

Научна област: Медицина; Ужа научна област: Физикална медицина и рехабилитација;
Изборно подручје: Матичне ћелије у биомедицинским наукама

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Владислав Воларевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија*, председник;
2. **Проф. др Данило Војводић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Имунологија*, члан;
3. **Доц. др Марија Миловановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија*, члан.

Закључак и предлог комисије

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, асист. др Јасмин Нурковић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.

Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

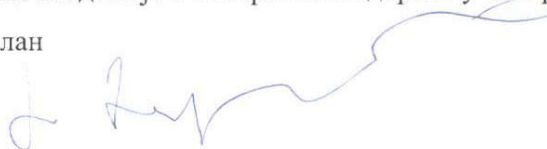
Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата асист. др Јасмина Нурковића, под називом “Утицај ласера ниске снаге и електромагнетног поља на морфологију, пролиферацију, диференцијацију и старење хуманих мезенхималних матичних ћелија изолованих из масног ткива” и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Владислав Воларевић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник



2. Проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан



3. Доц. др Марија Миловановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан.



У Крагујевцу, 12.04.2017. године