

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

**1. Одлука Изборног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу**

Одлуком Изборног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-3232/3-1 од 16.05.2012. године, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **др мед. Олгице Врндић** под називом:

**„Апоптоза лимфоцита периферне крви и фреквенција микронуклеуса код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде који су лечени радиоактивним јодом  $^{131}$ “**

На основу одлуке Изборног већа, формирана је Комисија у саставу:

1. Проф. др Нада Пејновић, ванредни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, председник
2. Проф. др Снежана Живанчевић Симоновић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
3. Проф. др Оливера Милошевић Ђорђевић, редовни професор за ужу научну област Генетика Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
4. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
5. Проф. др Татјана Радосављевић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Медицинског факултета Универзитета у Београду, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Изборном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

Кандидат **др мед. Олгица Врндић**, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Медицинског факултета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

**2.1. Биографија кандидата**

## **А. Лични подаци**

**Олгица Врндић** рођена је 09.06.1982. године у Крагујевцу. Медицински факултет у Крагујевцу уписала је 2001. године, а дипломирала 04. децембра 2007. године са просечном оценом 9,83. У току 2006. године учествовала је у програму једномесечне размене студената и боравила у Измиру (Турска). Обавила је општи лекарски стаж и положила стручни испит.

Докторске академске студије, смер Клиничка и експериментална интерна медицина уписала је школске 2008/09, а усмени докторски испит положила је 23.06. 2010.године са оценом 10 (десет).

Током основних студија, у периоду од 2004. до 2006.године била је укључена у извођење практичне наставе на предмету Патолошка физиологија као студент демонстратор. Од 19.12.2008. запослена на Медицинском факултету као сарадник у настави за ужу научну област Патолошка физиологија, а децембра 2010.године бирана је у звање асистента у настави за исту ужу научну област.

## **Б. Научно истраживачки рад**

Кандидат Олгица Врндић у научно-истраживачки рад укључила се још као студент, и у периоду од 2005. до 2009. године приказала је шест радова на конгресима студената биомедицинских наука. Од 2011. године укључена је у пројекат Министарства за науку под називом: **Преклиничка испитивања биоактивних супстанци** (евиденциони број пројекта 41010).

## **В. Подаци о објављеним радовима**

Кандидат Олгица Врндић остварила је 8 бодова по основу радова објављених у целини у међународним или домаћим часописима:

- један рад у целини публикован у научном часопису међународног значаја;
- један рад у целини публикован у водећем националном научном часопису;
- два рада у целини публикована у целини у националном часопису;
- већи број сажетака на међународним и домаћим научним скуповима.

Од поменутих радова за извештај су релевантни:

1. **Olgica Vrndic**, Svetlana Savin, Ljiljana Mijatovic, Aleksandar Djukić, Ilija Jeftic and Snezana Zivancevic-Simonovic. Concentration of thyroglobulin and thyroglobulin-specific autoantibodies in patients with differentiated thyroid cancer after treatment with radioactive Iodine 131. Labmedicine (2011), 42 (1) 27-31. **M23=3 бода**

2. **Olgica Vrndić**, Snežana Živančević-Simonović, Marijana Stanojević, Ljiljana Dimitrijević, Aleksandar Đukić i Nebojša Arsenijević. Korelacija koncentracija autoantitela specifičnih za tireoidnu peroksidazu određenih korišćenjem dva radioimunološka testa. Med Pregl 2010, 63(1-2): 104-108. **M51=2 бода**

3. **Olgica Vrndić**, Ilija Jeftić, Irena Kostić, Marijana Stanojević, Snežana Živančević-Simonović. Hashimoto encefalopatija, Medicinski časopis 2010, 44 (1): 41-44; **M53=1 бод**

4. Ilija Jeftić, Irena Kostić, **Olga Vrndić**, Vojin Kovačević. Feohromocitom: genska osnova, klinička slika i savremene mogućnosti dijagnostike. Medicinski časopis 2010, vol 44 (1):45-50; **M53=1 бод**

## 2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

### Наслов:

Предложени наслов докторске тезе је: „Апоптоза лимфоцита периферне крви и фреквенција микронуклеуса код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде који су лечени радиоактивним јодом  $^{131}\text{I}$ “, а Комисија предлаже да се наслов промени и да гласи: „Промене у апоптози лимфоцита, параметрима оксидативног стреса и профилима цитокина код болесника са диферентованим карциномом штитасте жлезде“

### Предмет:

Карциноми штитасте жлезде су најчешћи малигни тумори ендокриног система. У терапији диферентованих карцинома штитасте жлезде примењују се велике дозе радиоактивног јода  $^{131}\text{I}$ , који се крвљу транспортује до штитасте жлезде и у њој концентрише. При том долази до емитовања бета и гама зрачења, тако да системска радионуклидна терапија представља добар модел за испитивање ефеката јонизујућег зрачења у *in vivo* условима. Очекиван ефекат примене великих доза радиоактивног јода је јонизација праћена оксидативним стресом и ослобађањем појединих цитокина, као и оштећење ћелијских макромолекула уз повећање фреквенције микронуклеуса, и могућа индукција апоптозе лимфоцита периферне крви. Учесталост апоптозе лимфоцита периферне крви код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде није испитивана ни пре, нити после терапијске апликације  $^{131}\text{I}$ . Циљ ове студије је да се код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде испита апоптоза лимфоцита периферне крви паралелно са фреквенцијом микронуклеуса пре и седам дана након апликације великих доза (3.7 и 5.5 GBq) радиоактивног  $^{131}\text{I}$ . Испитиваће се повезаност процента апоптотичних лимфоцита и фреквенције микронуклеуса са параметрима интензитета оксидативног стреса, цитокинским профилем у серуму испитаника, остатком тиреоидног ткива, серумским концентрацијама тиреоглобулина и тиреоидним статусом испитаника. Сви резултати добијени код пацијената са тиреоидним карциномом пре апликације радиоактивног  $^{131}\text{I}$  упоредиће се вредностима у контролној групи здравих испитаника. У студију ће бити укључено 24 пацијента са диферентованим карциномом штитасте жлезде непосредно пре апликације радиоактивног  $^{131}\text{I}$ . Пацијентима ће нултог и седмог дана бити узети узорци крви, од којих ће један део бити коришћен за одређивање процента апоптотичних лимфоцита и фреквенције микронуклеуса, а други део за издвајање серума у којима ће се мерити интензитет оксидативног стреса и концентрација цитокина. Контролну групу ће чинити здрави добровољци. Процент апоптотичних лимфоцита одређиваће се непосредно након њиховог издвајања, на проточном цитометру (претходно обележаваних 7-амино-актиномицином D), а фреквенција мононуклеуса у биједарним ћелијама у култури (енгл. cytokinesis-blocked micronucleus assay). Концентрација маркера оксидативног стреса, малонил диалдехида (МДА), биће одређивана применом TBA методе, док ће се за процену укупног антиоксидативног капацитета користити RANDOX тест. Концентрација цитокина (IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17, IL-22, TNF- $\alpha$ ,) биће одређивана у серуму пацијената непосредно пре и седам дана после апликације  $^{131}\text{I}$ , као и у серуму здравих

испитаника, методом проточне цитометрије. У овој студији очекујемо да код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде пре апликације  $^{131}\text{I}$  постоји већи проценат апоптотичних лимфоцита у периферној крви и већи број микронуклеуса у односу на контролну групу, а да ће се проценат апоптотичних ћелија и фреквенција микронуклеуса повећати после радионуклидне терапије  $^{131}\text{I}$ . После апликације  $^{131}\text{I}$  очекујемо и повећање серумске концентрације проинфламаторних цитокина. Добијени резултати би могли да допринесу разумевању промена које се у лимфоцитима крви дешавају после примене великих доза радиоактивног  $^{131}\text{I}$  у лечењу диферентованог карцинома штитасте жлезде, као и да ли је апоптоза лимфоцита периферне крви и фреквенција микронуклеуса у корелацији са апликованом дозом, величином остатка тиреоидног ткива, тиреоидним статусом и лучењем неких цитокина.

### **Хипотеза:**

Примена радиоактивног  $^{131}\text{I}$  код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде изазива повећање процента апоптотичних лимфоцита и повећање фреквенције микронуклеуса, што може бити у корелацији са дозом апликованог  $^{131}\text{I}$  и/или величином остатка тиреоидног ткива, и/или интензитетом оксидативног стреса, и/или неким излученим цитокинима, и/или тиреоидним статусом.

Примена радиоактивног  $^{131}\text{I}$  код болесника са диферентованим карциномом штитасте жлезде изазива повећање процента апоптотичних лимфоцита и фреквенције микронуклеуса које је у корелацији са дозом апликованог  $^{131}\text{I}$ , величином остатка тиреоидног ткива, интензитетом оксидативног стреса, серумским нивоима проинфламаторних цитокина и тиреоидним статусом.

### **2.3. Подобност кандидата**

Кандидат, Олгица Врндић положила је усмени докторски испит 23.06.2010. године са оценом 10 (десет). У току студија објавила је један рад у научном часопису међународног значаја и три рада у националним часописима, од чега три рада у којима је први аутор, чиме је испунила услов за пријаву докторске тезе.

### **2.4. Преглед стања у подручју истраживања**

Карциноми штитасте жлезде су најчешћи тумори ендокриног система, а њихова инциденца се у току протеклих тридесетак година повећала у многим земљама. Од свих малигних тумора штитасте жлезде, око 90% су добродиферентовани тумори (папиларни и фоликуларни карциноми). С обзиром на то да су ћелије добродиферентованоих тиреоидних карцинома задржале способност акумулације јода, после оперативног лечења пацијентима се у циљу аблације остатка тиреоидног ткива апликује радиоактивни  $^{131}\text{I}$  (90% терапијског ефекта остварује се  $\beta^-$ , а 10%  $\gamma$  зрачењем) чије је полувреме распада 8 дана. Системска радионуклидна терапија представља добар модел за испитивање пролонгираног дејства јонизујућег зрачења у *in vivo* условима. Очекивани ефекат примене великих доза радиоактивног  $^{131}\text{I}$  је јонизација материје праћена стварањем слободних радикала и настанком оксидативног стреса. Иако у литератури постоји велики број радова који се односе на оксидативни стрес проузрокован јонизујућим зрачењем уопште, оксидативни стрес проузрокован пролонгираним дејством јонизујућег зрачења приликом примене радионуклидне терапије ( $^{131}\text{I}$ ) недовољно је испитан. Најновији радови указују на то да оксидативни стрес може да подстакне ослобађање IL-1 $\beta$  и IL-18, односно TNF- $\alpha$  и IL-6, као и да

неки цитокини могу бити маркери радијационог оштећења ћелија/ткива. Према нашим сазнањима, до сада је публикован само један рад који се односи на продукцију цитокина након терапијске примене радиоактивног јода  $^{131}\text{I}$ , и то код пацијената са Graves-овом болешћу који су лечени знатно мањим дозама радиоактивног јода  $^{131}\text{I}$ . У том раду је показано повећање концентрације IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ , али се мора имати у виду чињеница да се ради о аутоимунској болести, са могуће другачијим цитокинским профилем него код тиреоидног карцинома.

У оксидативном стресу који је проузрокован јонизујућим зрачењем настаје оштећење ћелијских макромолекула: протеина, липида и ДНК. Микронуклеуси представљају крајњи ефекат оштећења ДНК и маркер су генотоксичног дејства јонизујућег зрачења, а одређивање фреквенције микронуклеуса (engl. cytokinesis-blocked micronucleus assay, CBMN assay) је стандардни тест за детекцију хромозомских оштећења и нестабилности генома у молекуларним и цитогенетским студијама. Микронуклеуси представљају фрагменте хромозома или целе хромозоме који су издвојени у току митозе и у цитоплазми ћерки ћелија уочавају се као мало, додатно једро. Могу се детектовати и у лимфоцитима периферне крви здравих особа, а њихов број је повећан код особа са различитим туморима. Осим повећања фреквенције микронуклеуса, код особа са неким туморима (главе и врата, малигног меланома) показано је и повећање апоптозе лимфоцита периферне крви непосредно након њиховог издвајања. С обзиром на то да се апоптозом уклањају неке ћелије са непоправљивим генетским оштећењем, као и да агенси који индукују хромозомске аберације изазивају повећано стварање микронуклеуса и стимулишу апоптозу, уклањање оштећених ћелија процесом апоптозе може да утиче на фреквенцију детектованих микронуклеуса.

Фреквенција микронуклеуса у лимфоцитима периферне крви особа са диферентованим карциномима штитасте жлезде испитивана је у базалним условима, као и након апликације радиоактивног јода  $^{131}\text{I}$ , док апоптоза лимфоцита непосредно након издвајања из периферне крви особа са карциномом штитасте жлезде није испитивана ни у базалним условима, нити након примене радиојодне терапије.

Циљ ове студије је да се испита апоптоза лимфоцита периферне крви и фреквенција микронуклеуса код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде пре и седам дана након апликације великих доза (3.7 и 5.5 GBq) радиоактивног јода  $^{131}\text{I}$ . Процент апоптотичних лимфоцита и фреквенција микронуклеуса анализираће се у односу на друге испитиване параметре (параметре оксидативног стреса, цитокински профил у серуму испитаника, остатак тиреоидног ткива, серумску концентрацију тиреоглобулина и тиреоидни статус испитаника). Како се одређени ниво апоптозе лимфоцита крви код пацијената са тиреоидним карциномом може очекивати и пре радионуклидне терапије, резултати добијени пре апликације радиоактивног јода  $^{131}\text{I}$  упоредиће се вредностима у контролној групи здравих испитаника.

## **2.5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области**

Основни циљ ове студије је да се код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде испита апоптоза лимфоцита периферне крви паралелно са фреквенцијом микронуклеуса пре и седам дана након апликације великих доза (3.7 и 5.5 GBq) радиоактивног  $^{131}\text{I}$  и да се добијене вредности анализирају у односу на дозу апликованог  $^{131}\text{I}$ , величину остатка тиреоидног ткива, интензитет оксидативног стреса, цитокински профил и тиреоидни статус испитаника.

У складу са овим општим циљем поставили смо и следеће специфичне циљеве:

**Ad1.** Испитати да ли постоји разлика у проценту апоптотичних лимфоцита између групе пацијената са DTC пре апликације  $^{131}\text{I}$  и контролне групе здравих испитаника.

**Ad2.** Испитати да ли постоји разлика у проценту апоптотичних лимфоцита у групи пацијената са DTC пре и седам дана након апликације  $^{131}\text{I}$ .

**Ad3.** Испитати да ли постоји корелација између процента апоптотичних лимфоцита седам дана после терапије  $^{131}\text{I}$  и дозе апликованог  $^{131}\text{I}$ , интензитета оксидативног стреса, концентрације мерених цитокина, величине остатка тиреоидног ткива и тиреоидног статуса испитаника.

**Ad4.** Испитати да ли постоји разлика у фреквенци микронуклеуса између групе пацијената са DTC пре апликације  $^{131}\text{I}$  и контролне групе здравих испитаника.

**Ad5.** Испитати да ли постоји разлика у фреквенци микронуклеуса у групи пацијената са DTC пре и седам дана након апликације  $^{131}\text{I}$ .

**Ad6.** Испитати да ли постоји корелација између фреквенце микронуклеуса седам дана после терапије  $^{131}\text{I}$  и дозе апликованог  $^{131}\text{I}$ , интензитета оксидативног стреса, концентрације мерених цитокина, концентрације тиреоглобулина и тиреоидног статуса испитаника.

**Ad7.** Испитати да ли постоји корелација између процента апоптотичних лимфоцита и фреквенције микронуклеуса код пацијената са DTC пре апликације  $^{131}\text{I}$ .

**Ad8.** Испитати да ли постоји корелација између процента апоптотичних лимфоцита и фреквенције микронуклеуса код пацијената са DTC након апликације  $^{131}\text{I}$ .

На основу добијених резултата истраживања моћи ћемо боље да сагледамо промене у периферној крви, и посебно лимфоцитима, код особа са диферентованим карциномом штитасте жлезде који су лечени великим дозама  $^{131}\text{I}$ . Добијени резултати могли би да допринесу разумевању *in vivo* ефеката јонизујућег зрачења и њихових нежељених ефеката.

## 2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

У до сада објављеној и нама доступној литератури показано је повећање броја микронуклеуса после терапије  $^{131}\text{I}$ , али то повећање броја микронуклеуса није анализирано у односу на друге параметре који ће бити анализирани у овој студији. Наша студија би требало по први пут да испита однос између повећања броја микронуклеуса после радиојодне терапије и остатка тиреоидног ткива, интензитета оксидативног стреса, концентрације одабраних цитокина и апоптозе лимфоцита периферне крви код особа са диферентованим карциномом штитасте жлезде. Значај студије је ближе и детаљније упознавање *in vivo* ефеката продуженог дејства великих доза јонизујућег зрачења у организму човека.

## 2.7. Методе истраживања

**Пацијенти:** У студију ће бити укључено 24 пацијента оба пола, који су оперисани од тумора штитасте жлезде и код којих је патохистолошки потврђена дијагноза добродиферентованог карцинома (папиларни или фоликуларни карцином), а упућени су у Центар за нуклеарну медицину КЦ Крагујевац ради апликације радиоактивног  $^{131}\text{I}$ .

**Узорковање:** У студији ће бити коришћен „згодни” узорак (испитаници које задовољавају критеријуме за укључивање биће укључивани узастопно).

**Критеријуми за укључивање:** (1) постављена дијагноза папиларног или фоликуларног карцинома штитасте жлезде, (2) да је пацијент оперисан и да је конзилијарно донета одлука о апликацији радиоактивног  $^{131}\text{I}$ , (3) хипотиреоидно стање пацијента, односно

концентрација TSH већа од 30 mIU/L и (4) потписан формулар информисаног пристанка после детаљног информисања пацијента о студији.

**Критеријуми за искључивање:** (1) пацијенти млађи од 18 година, (2) пацијенти са акутним инфекцијама (до месец дана пре апликације  $^{131}\text{I}$ ), (3) раније дијагностификоване и/или лечене аутоимунске болести, (4) раније дијагностификоване и/или лечене хроничне инфламаторне болести и (5) раније дијагностификовани и/или лечени други малигни тумори, односно примењена зрачна или хемиотерапија.

**Контролна група:** Здрави добровољци који немају раније дијагностификоване туморе, акутне или хроничне инфламаторне болести, и који месец дана пре узимање узорка крви нису имали акутну инфекцију са повишеном температуром, а најмање три месеца нису били изложени дејству јонизујућег зрачења у дијагностичке или терапијске сврхе.

**Основне карактеристике испитаника** – пол, животна доб, лична анамнеза - (конзумирање цигарета), да ли је раније боловао/ла или лечен/а од болести штитасте жлезде (хипотиреоза, хипертиреоза, струма), да ли је раније боловао/ла или лечен/а од других малигнух тумора и колико је времена прошло од операције.

**Апоптоза мононуклеарних ћелија.** Апоптоза лимфоцита периферне крви биће одређивана помоћу проточног цитометра применом Annexin V-FITC/7-AAD Kit комплекта (Beckman Coulter, France) методом двоструког бојења флуоресцентним бојама Анексин V и 7-амино-актиномицин Д (7-ADD) вијабилном бојом. Ћелије ће бити испране хладним фосфатним пуферским раствором (BPS), а потом центрифугиране 5 минута на 500обртај/мин. По одливању супернатанта ћелије ће бити ресуспендоване везујућим пуфером до концентрације од  $5 \times 10^6$ -  $10 \times 10^6$  ћелија/ml раствора. Потом ће у одговарајуће епрувете, запремине 5 ml, бити стављено по 100 $\mu\text{L}$  ћелијске суспензије и по 10  $\mu\text{L}$  Анексина V-FITC и 20  $\mu\text{L}$  7-ADD вијабилне боје. Након вортексовања епрувета уследиће инкубација у трајању 15мин на температури 25°C, у мраку, после чега ће у сваку епрувету бити додато по 400  $\mu\text{L}$  везујућег пуфера. Добијени узорци биће анализирани на проточном цитометру.

**Микронуклеуси.** Учесталост микронуклеуса у мононуклеарним ћелијама периферне крви биће анализирана применом „Citokinezis blok mikronukleus testa“ (CBMN) описаног од стране Fenecha 1985. године. Пуна хепаринизирана крв (0,5 ml) биће додата у 5 ml комплетне подлоге за култивацију лимфоцита PBMax Karyotyping (Invitrogen, California, USA). Сваки узорак крви биће засејан у дупликату и инкубиран 72h на 37°C. Након 44h од почетка култивације културама ће бити додат Citohalazin B (Sigma, St Louis, MO, USA) у финалној концентрацији од 4 $\mu\text{g/ml}$ . Инкубација ћелијских култура ће затим бити настављена још додатних 28h. По завршетку инкубације и иницијалне центрифуге, ћелијске суспензије ће бити третиране хладним (4°C) хипотоним, 0.56% раствором KCl два пута, и фиксирани три пута свежим фиксативом (сирћетна киселина:метанол=1:3). Уследиће ресуспендовање узорака у малој количини фиксатива и разливање на хладне плочице. Осушене плочице биће третиране 2% раствором Giemse (Alfapanon, Нови Сад, Србија) у трајању 12 минута. Учесталост микронуклеуса биће одређивана анализом 1000 бинуклеарних ћелија (BN) по особи.

**Тиреоидни статус:** концентрација слободног тироксина (fT4), слободног тријодторонина (fT3) и тиреостимулишућег хормона (TSH) одређиваће се стандардним дијагностичким тестовима фирме *Cis Biointernational* (Француска) према упутству произвођача, у лабораторији Центра за нуклеарну медицину КЦ Крагујевац.

**Тиреоглобулин и антитета:** Концентрација тиреоглобулина (Tg) и антитиреоглобулинских антитета (TgAt) одређиваће се стандардним дијагностичким тестовима фирме *Cis Biointernational* (Француска) према упутству произвођача, у лабораторији Центра за нуклеарну медицину КЦ Крагујевац.

**Параметри оксидативног стреса** у серуму пацијента одређиваће се непосредно пре, као и седмог дана после апликације радиоактивног јода: малонил диалдехид (МДА) применом TBA методе и укупни антиоксидативни капацитет RANDOX тестом.

**Концентрација цитокина (IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12p70, IL-13, IL-17, IL-22, TNF- $\alpha$ ) у серуму пацијента непосредно пре, као и седмог дана после апликације радиоактивног јода биће одређивана методом проточне цитометрије, применом BMS817FF e-Bioscience кита. Мешавина 25  $\mu$ L суспензије зрнаца (енг. beads), 25  $\mu$ L стандарда/узорка и 50  $\mu$ L примарних антитела коњугованих са биотином биће остављена 2 сата на собној температури (18-25°C) у мраку. Након два сата у мешавину ће бити додат 1mL пуфера, и добијена суспензија ће бити центрифугирана 5мин на 2000обрт/мин. По уклањању супернатанта поступак испирања биће поновљен, и добијени раствор третиран стрептавидин-фикоеритрином, те инкубиран на собној температури 1h. Уследиће двоструко испирање, и на крају ресуспендовање узорака серума и стандарда у 250  $\mu$ L пуфера, и анализа на проточном цитометру.**

**Сцинтиграм целог тела:** трећег дана после терапијске апликације радиоактивног јода 131 на Гама камери (у Центру за нуклеарну медицину КЦ Крагујевац) .

**Снага студије и одређивање величине узорка (групе):** Предвиђени број испитаника, по 24 у свакој групи, израчунат је према претпостављеној величини ефеката, задатој вредности коефицијента  $\alpha=0.05$  и вредности снаге студије од 80%.

## **Врста студије**

Клиничка, опсервациона, аналитичка, проспективна, кохортна контролисана студија.

## **Статистичка обрада**

Подаци ће бити анализирани коришћењем статистичког програма SPSS верзија 13, применом батерије статистичких тестова- Студентов Т тест и упарени Т тест у случају нормалне дистрибуције посматраних варијабли, односно непараметријски Mann Whitney и Wilcoxon-ов тест еквивалентних парова за случај неправилне расподеле. Међусобна повезаност посматраних варијабли и јачина везе биће испитана тестовима линеарне регресије и корелације (одређивањем Pearson/Spearman коефицијената). Резултати ће се сматрати статистички значајним уколико је  $p<0.05$ .

## **2.8. Очекивани резултати докторске дисертације**

Очекујемо да код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде пре апликације  $^{131}\text{I}$  ростоји изванредан ниво апоптозе лимфоцита крви и већи број микронуклеуса у односу на контролну групу, а да ће се проценат апоптотичних ћелија и фреквенција микронуклеуса повећати после радионуклидне терапије  $^{131}\text{I}$ . На основу резултата једног рада у коме су испитивани цитокини у серуму пацијената са Graves-овом болешћу који су лечени знатно мањим дозама  $^{131}\text{I}$  (уз оградом да се ради о аутоимунској болести, са могуће другачијим цитокинским профилем) после апликације  $^{131}\text{I}$  очекујемо повећање серумске концентрације неких проинфламаторних цитокина.

## **2.9. Оквирни садржај дисертације**

У овој студији ће се по први пут паралелно испитати проценат апоптотичних лимфоцита и фреквенција микронуклеуса у крви пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде који су лечени радиоактивним  $^{131}\text{I}$  упоредо са другим анализираним параметрима, што ће допринети разумевању промена које се дешавају у лимфоцитима периферне крви код особа изложених познатим и великим дозама радиоактивног јода.



## 2.10. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална интерна медицина.

## 2.11. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Нада Пејновић, ванредни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, председник
2. Проф. др Снежана Живанчевић Симоновић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
3. Проф. др Оливера Милошевић Ђорђевић, редовни професор за ужу научну област Генетика Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
4. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
5. Проф. др Татјана Радосављевић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Медицинског факултета Универзитета у Београду, члан

## Закључак и предлог Комисије

1. На основу досадашњег научно истраживачког рада и публикованих радова кандидат др мед. Олгица Врндић, испуњава све услове прописане Статутом Медицинског факултета и законом о Универзитету за одобрење теме и израду докторске дисертације;
2. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна;
3. Комисија сматра да ће докторска дисертација кандидата др мед. Олгице Врндић указати да постоје статистички значајни резултати и показатељи да су интензитет апоптозе лимфоцита периферне крви и фреквенција микронуклеуса повећани код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде у односу на контролну групу здравих испитаника, а да је њихово повећање индуковано продуженим дејством великих доза јонизујућег зрачења у организму човека у корелацији са апликованом дозом, остатком тироидног ткива, интензитетом оксидативног стреса и неким ослобођеним цитокинима.
4. Комисија предлаже Већу ментора Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др мед. **Олгице Врндић**, под измењеним називом: **„Промене у апоптози лимфоцита, параметрима оксидативног стреса и профилима цитокина код болесника са диферентованим карциномом штитасте жлезде“** и одобри њену израду.

## Предлог ментора

За ментора ове докторске тезе Комисија предлаже **Проф. др Снежану Живанчевић Симоновић**, редовног професора за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Проф. др Снежана Живанчевић Симоновић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом.

У Крагујевцу  
07.06.2012.године

## ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Нада Пејновић, ванредни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, председник
- 

2. Проф. др Снежана Живанчевић Симоновић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
- 

3. Проф. др Оливера Милошевић Ђорђевић, редовни професор за ужу научну област Генетика Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
- 

4. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан
- 

5. Проф. др Татјана Радосављевић, редовни професор за ужу научну област Патолошка физиологија Медицинског факултета Универзитета у Београду, члан
-