

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ФАКУЛТЕТ: ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ



РЕПУБЛИКА СРПСКА
УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
Природно-математички факултет

Број: 19-79/14

Датум: 17.01.2014. год.
БАЊА ЛУКА

ИЗВЈЕШТАЈ

о оцјени подобности теме и кандидата за израду докторске тезе

ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

На основу одлуке Наставно-научног вијећа Природно-математичког факултета број 19/3.3148-1/13 од 19.11.2013. године именована је Комисија за оцјену подобности теме и кандидата за израду докторске дисертације под називном „Идентификација и карактеризација генетичких полиморфизама асоцираних са синдромом иритабилног колона“ у сљедећем саставу:

Проф.др. Стојко Видовић, коментор-предсједник

Ужа научна област: Хумана генетика; Молекуларна биологија, Медицински факултет, Универзитет у Бањој Луци, БиХ.

Доц.др. Лејла Појскић, коментор-члан

Ужа научна област: Хумана молекуларна генетика; Биотехнологија и биосигурност, Институт за генетичко инжењерство и биотехнологију, Универзитет у Сарајеву, БиХ.

Проф.др. Наташа Голић, члан

Ужа научна област: Молекуларна генетика и генетичко инжењерство; Молекуларна микробиологија, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Београд, Србија.

1. БИОГРАФСКИ ПОДАЦИ, НАУЧНА И СТРУЧНА ДЈЕЛАТНОСТ КАНДИДАТА

Мр. Ирина Вулић

Ужа научна област: хумана генетика

Ирина Вулић је рођена 17.06.1978. године у Бањој Луци гдје је завршила основну школу, а Гимназију је завршила у Брну, Република Чешка. Године 2002. уписала је Природно-математички факултет у Бањој Луци, Одејек за биологију, смјер општи. Дипломирала у марту 2008. године са просјечном оцјеном 8.75 и стекла стручно звање дипломирани биолог.

Од јуна до децембра 2008. године учествовала је у извођењу вјежби, а 11.12.2008. године изабрана је за асистента на истим предметима: Хумана генетика и Биологија са генетиком на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци.

Постдипломски студиј је уписала школске 2009/10. године на Природно-математичком факултету у Сарајеву, Одсек за биологију, смјер генетика. Експериментални дио магистарског рада урадила на Институту за генетичко инжењерство и биотехнологију у Сарајеву. Магистарски рад под називом „Анализа улоге хондроитин сулфат протеогликана типа 3 (CSPG 3) у биологији схизофреније“ одбранила је 17.12.2012. године са оцјеном 10.00 и тиме стекла академско звање магистар биолошких наука.

У фебруару 2013. године изабрана је у звање вишег асистента за ужу научну област Хумана генетика на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци.

Члан је Антрополошког друштва Србије и Удружења генетичара у БиХ.

Страни језици којима се користи су енглески и чешки.

НАУЧНИ СКУПОВИ

- 49. Конгрес Антрополошког Друштва Србије са међународним учешћем, Врдник, 2010. **Ирина Вулић**, Јелена Гајић, С.Видовић, Смиљана Параш, З.Обрадовић и М.Новаковић: “Учесталост канцерогених болести на подручју Мркоњић Града”.
- 52. Конгрес Антрополошког Друштва Србије са међународним учешћем, Нови Сад, 2013. С.Видовић, Маја Петковић, **Ирина Вулић**: “Учесталост тризомије 21 регистроване код новорођенчади у КЦ Бања Лука”.
- 52. Конгрес Антрополошког Друштва Србије са међународним учешћем, Нови Сад, 2013. **Ирина Вулић**, С.Видовић, Маја Петковић: “Учесталост хромосомских аберација утврђених раном амниоцентезом у КЦ Бања Лука”.
- 52. Конгрес Антрополошког Друштва Србије са међународним учешћем, Нови Сад, 2013. **Ирина Вулић**, Лејла Појскић, Лилијана Оруч, Сања Малица, С.Видовић: “Улога гена неурокан у патологији шизофреније”.
- 52. Конгрес Антрополошког Друштва Србије са међународним учешћем, Нови Сад, 2013. С.Видовић, З.Васић, Маја Петковић, **Ирина Вулић**, И.Барош: “Компаративна анализа антропометријских параметара школске омладине узраста 7–19 година између два миленијума”.

ПУБЛИКАЦИЈЕ

- Васић З., Видовић С., **Вулић Ирина**, Шњегота Драгана, Шушчевић Д., Бојић Н., Барош И.: “Компаративна анализа антропометријских параметара ученика основних школа урбаног и руралног подручја регије Добој”. Гласник Антрополошког друштва Србије, Ниш, 2012; Вол.47:163-72.
- Видовић С., Васић З., **Вулић Ирина**, Параш Смиљана, Шушчевић Д. и М. Новаковић: “Утицај миграција на дистрибуцију крвних група АБО и Rh система на подручју Републике Српске”. Гласник Антрополошког друштва Србије, Ниш, 2013. In press!

2. ЗНАЧАЈ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

Елаборацију пројекта предложене докторске дисертације кандидат заснива на доказаним показатељима особености синдрома иритабилног колона енг. *Irritable bowel syndrome* (IBS) и дефицитарности одговарајућих података на молекуларно–генетичком нивоу, укључујући и полазне референтне податке за актуелна и будућа истраживања.

Босна и Херцеговина представља културно–историјски и својеврстан популацијско–генетички спецификум. Образложене амбиције предложене студије су у истраживању присуства већ потврђених кандидат–гена у етиологији поменутог

обољења, али и дистрибуције могућих нових кандидат-гена, што би био изузетно значајан допринос познавању, како генетике IBS, тако и напредној дијагностици и лијечењу ове болести.

Синдром иритабилног цријева (IBS) је функционални гастроинтестинални (ГИ) поремећај са великим утицајем не само на систем здравља већ и на квалитет живота пацијента. До сада је била доступна неспецифична дијагностика или неадекватно лијечење, највише због некомплетног познавања патогенезе. Недавно је показано да узроке треба тражити међу поремећеном функцијом мукозне баријере, промјенама у сигналној трансдукцији неурона и имуног система.

Значајна улога генетичких фактора у патогенези IBS-а показана је студијама рађеним на породицама и близанцима. Ипак, истраживања генске основе функционалних ГИ поремећаја још су у повоју, а разбацани центри широм свијета су изводили мале пилот студије ниске статистичке моћи. Из лекција научених у прошлости, јасно је да је обавезно имати велики број контролних узорака како би се одредили генетички фактори код комплексних болести. Даље, детаљна клиничка и фенотипска карактеризација је предуслов стратификације ендотипова у студијама повезаности. Осим тога, само је мали број студија на свијету показао молекуларне патолошке промјене код IBS пацијената. До сада, ниједна студија није показала корелацију генотипа и фенотипа и није било систематског приступа.

Реализација предложеног пројекта би била прва самостална и независна молекуларно-генетичка студија о улози наследних фактора у етиологији IBS-а на популацијском узорку из Босне и Херцеговине. Ауторица аргументовано очекује да би успјешна реализација ове студије могла бити и снажан подстицај развоју нових праваца и процеса мултидисциплинарног научноистраживачког приступа у бх. хуманогенетичким и биомедицинским пројектима.

Циљеви истраживања су примарно усмјерени ка анализи структуре гена који су потенцијално укључени у детерминацију предиспонирајућих фактора у етиологији IBS-а. Обухваћени су у три слиједећа главна сегмента: истраживање инфламаторних (имунолошких) (Swan et al. 2013; Wang et al. 2013), специфичних микробиотичких услова цријевне средине (Ohman et Simren 2013) и фактора нервне регулације (Wouters et al. 2013).

- Полазиште предложених истраживања је могућа идентификација молекуларних маркера у домену гена, фактора нервне регулације за које постоји основана теоријска веза са етиологијом IBS-а, што је иначе основ је за покретање свих постојећих нивоа и праваца у припадајућој области.

У складу са новијим резултатима молекуларно-генетичких истраживања ендогених фактора IBS-а, изабрани су гени који имају значајну улогу у регулацији преношења сигнала у ћелији, а чији полиморфизми нису детаљније испитивани.

- Самостална израда прве независне студије о молекуларној генетици IBS-а у узорку прикупљеном у Босни и Херцеговини иницира истраживачке пројекте који нас укључују у савремене трендове развоја генетике IBS-а.

Задачи програмираних истраживања - у реализацији полазних циљева истраживања, постављени су слиједећи задаци:

- проспективно прикупљање узорка од пацијената са IBS-ом (*експериментална група*) примјеном стандардизираних дијагностичких инструмената од стране експерата са КЦБЛ, те репрезентативног узорка бх. популације (*контролна група*) која је статистичко-популацијски еквивалент експерименталној групи (укључујући демографску, полну, добну и здравствену структуру) према унапријед дефинисаним

критеријима укључења;

- индивидуална генотипизација свих испитаника по истраживаним молекуларним маркерима и анализа дистрибуције утврђених фреквенција унутар двије поређене групе (и њихових категорија);
- испитивање степена корелације одређених генетичких и фенотипских параметара.

Метод реализације полазних података су у потпуности прилагођене најсавременијим актуелним интернационалним стандардима, што очекиване резултате чини компатибилним за инкорпорирање у расположиве свјетске базе података одговарајуће научне области. Реализација планираних истраживања ће се одвијати у неколико фаза умјешно примјереног садржаја:

- прикупљање узорака;
- лабораторијска обрада прикупљеног материјала:
 - екстракција геномске ДНК,
 - амплификација одабраних локуса примјеном *PCR* методе,
 - детекција генотипова и анализа генске варијабилности (генотип и експресија)
- молекуларно–генетичка и популацијско–генетичка анализа добијених резултата;
- презентација остварених резултата истраживања и инкорпорирање одговарајућих показатеља генетичке структуре у регионалну генетичку базу података.

Прикупљање узорака бит ће дизајнирано уважавајући савремене и стандардне дијагностичке критерије (ROME III). Проспективно ће бити регрутирано најмање двадесет пацијената на Интерном одјељењу *КЦ Бања Лука*. Као контролна група, биће прикупљен одговарајући узорак гдје ће бити респектоване све интернационалне норме у располагању индивидуалним биолошким подацима.

Као извор генетичког материјала испитаника биће кориштено по 12 *мл* крви сваког испитаника, те биолошки узорци фецеса и биоптички материјал када то буде могуће. Непосредно након прикупљања, узорци ће бити укључени у лабораторијску обраду, како би се добила што већа количина једарне ДНК. У клиничкој евалуацији и прикупљању биолошких узорака бит ће ангажирано квалификовано особље *КЦБЛ*. Пацијенти ће бити информирани о сврхи истраживања, те потписати сагласност за учешће у овој студији.

Лабораторијска обрада изворног материјала ће се базирати на примјени најсавременијих метода детекције и идентификације ДНК маркера и оптимизирана у складу са рецентним и рецензираним налазима на овом пољу.

Екстракција укупне геномске ДНК из узорка крви ће тећи према протоколу који је оптимизиран у *Лабораторији за хуману генетику Института за генетичко инжењерство и биотехнологију*. Квалитет и квантитет изолиране ДНК, као изузетно важан параметар комплетне процедуре генотипизације, биће праћен на агарозном гелу, уз употребу етидијум бромида и референтног стандарда. Додатно, концентрација ДНК ће бити измјерена примјеном *UV*–спектрофотометријске методе.

Као извор индивидуалних разлика у региону посматраних кандидат–гена, бит ће кориштени тачкасти (*SNP*) и дужински полиморфизми једарне ДНК (инсерција/делеција или репетитивне секвенце). Претпоставља се да ови полиморфизми с обзиром на свој положај у структури гена могу имати директну везу са промјеном његове структуре и функције, односно са проматраним поремећајем.

Ланчана реакција полимеризације (*PCR*) је рутинска лабораторијска процедура за

умножавање циљаних фрагмената генома. Притом ће бити аплицирана техника градијентног *PCR* и класичног *PCR* (*Gene Amp[®] PCR System 9700*).

Методe даље карактеризације *PCR* продукта ће бити примјењиване у складу са величином и природом очекиваних генетичких разлика испитаника. Анализа на агарозном гелу са етидијум-бромидом омогућава детекцију разлика од најмање 50–100 *bp* између анализираних *PCR* продуката. За детекцију изузетно малих разлика у дужини *PCR* продукта (1–2 *bp*) и његовој примарној структури, примјењиват ће се технологија флуоресцентног означавања прајмера или појединачних нуклеотида. Сепарација и анализа означених ДНК фрагмената или секвенцирање амплифицираног дијела генома ће се вршити на денатурирајућем полиакриламидном гелу (*SDS-PAGE*).

Контрола исправности процедуре изолација и амплификације ДНК ће се изводити примјеном позитивне и негативне контроле. Сви резултати ће бити фотодокументирани помоћу Кодак *EDAS* система (*Electrophoresis Documentation Analysis Sistem*) за агарозни гел или примјеном одговарајућег софтвера на флуоресцентном детекцијском систему (*ABI PRISM[®] Data Collection Software* и *Gene Scan[®]*).

Молекуларно–генетичка и популацијско–генетичка анализа добијених резултата програмирана је тако да ће у евалуацији генотипских фреквенција, утврђивању и тестирању разлика између експерименталне и контролне групе бити примјењиване коректно одабране стандардне методе популацијско–асоцијацијских студија. За биостатистичку обраду добијених вриједности бит ће кориштени стандардизирани и референтни савремени софтвери прилагођени типу истраживања.

ЦИТИРАНА ЛИТЕРАТУРА

- D'Amato M. Genes and functional GI disorders: from casual to causal relationship. *Neurogastroenterol Motil.* 2013 Aug;25(8):638-49.
- Ip SP, Zhao M, Xian Y, Chen M, Zong Y, Tjong YW, Tsai SH, Sung JJ, Bensoussan A, Berman B, Fong HH, Che CT. Quality assurance for Chinese herbal formulae: standardization of IBS-20, a 20-herb preparation. *Chin Med.* 2010 Feb 22;5:8.
- Ohman L, Simrén M. Intestinal microbiota and its role in irritable bowel syndrome (IBS). *Curr Gastroenterol Rep.* 2013 May;15(5):323
- Saito Y.A. The Role of Genetics in IBS. *Gastroenterol Clin North Am.* 2011 March; 40(1):45–67.
- Swan C, Duroudier NP, Campbell E, Zaitoun A, Hastings M, Dukes GE, Cox J, Kelly FM, Wilde J, Lennon MG, Neal KR, Whorwell PJ, Hall IP, Spiller RC. Identifying and testing candidate genetic polymorphisms in the irritable bowel syndrome (IBS): association with TNFSF15 and TNF α . *Gut.* 2013 Jul;62(7):985-94.
- Wang WF, Li X, Guo MZ, Chen JD, Yang YS, Peng LH, Wang YH, Zhang CY, Li HH. Mitochondrial ATP 6 and 8 polymorphisms in irritable bowel syndrome with diarrhoea. *World J Gastroenterol.* 2013 Jun 28;19(24):3847-53.
- Wouters MM, Lambrechts D, Knapp M, Cleynen I, Whorwell P, Agréus L, Dlugosz A, Schmidt PT, Halfvarson J, Simrén M, Ohlsson B, Karling P, Van Wanrooy S, Mondelaers S, Vermeire S, Lindberg G, Spiller R, Dukes G, D'Amato M, Boeckxstaens G. Genetic variants in CDC42 and NXP1 as susceptibility factors for constipation and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome. *Gut.* 2013 Sep 16.

3. ОЦЈЕНА И ПРИЈЕДЛОГ

У складу са свим наведеним чињеницама о оцјени подобности теме и кандидата за израду докторске тезе, Комисија једногласно констатује да кандидат испуњава све Законом предвиђене услове за израду докторске тезе:

- има научни степен магистра наука из припадајуће области пријављене докторске дисертације и
- референтне научне публикације из области предложене теме.

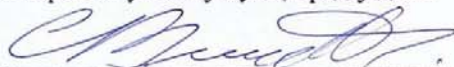
Када је ријеч о подобности предложене теме, комисија констатује да су:

- садржај и задани циљеви пројекта докторске тезе подобни за самостално научно истраживање, те да
- постоје сви неопходни услови за реализацију предвиђеног програма истраживања.

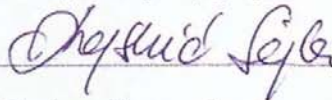
На основу свега наведеног, у генералном закључку, Комисија оцјењује да *мр. Ирина Вулић*, виши асистент Медицинског факултета у Бања Луци, *испуњава све прописане услове* за реализацију докторске тезе под насловом: „*Идентификација и карактеризација генетичких полиморфизама асоцираних са синдромом иритабилног колона*“, која представља квалитетну основу за оригинална и релевантна научна истраживања у припадајућој области биолошких наука, те предлаже Наставно-научном вијећу Природно-математичког факултета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвате овај Извјештај и одобре израду наведене докторске дисертације.

ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1. Проф.др. Стојко Видовић, редовни професор, Медицински факултет, Универзитет у Бањој Луци, предсједник



2. Доц.др. Лејла Појскић, виши научни сарадник, Институт за генетичко инжењерство и биотехнологију, Универзитет у Сарајеву, члан



3. Проф.др. Наташа Голић, научни савјетник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Београд, члан



Бања Лука, Сарајево, Београд, 16.1.2014.