

ПРИЈАВА	22. 09. 17	Број	Вредност
05	107-06/2-2		

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**  
**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ**

**1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 13.07.2017. године, одлуком бр. IV-03-713/18 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Ефекат мезенхималних матичних ћелија на оштећење јетре узроковано активацијом НКТ ћелија” кандидата Марине Газдић, у следећем саставу:

1. Проф. др Миодраг Лукић, редовни професор – емеритус Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија*, председник;
2. Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области *Микробиологија и имунологија* и *Онкологија*, члан;
3. Проф. др Миодраг Стојковић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Генетика*, члан;
4. Академик проф. др Владимир Бумбаширевић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Хистологија и ембриологија*, члан;
5. Проф. др Владимир Трајковић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Имунологија*, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију др Марине Газдић и подноси Наставно-научном већу следећи

## ИЗВЕШТАЈ

### 2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидата др Марине Газдић под називом „Ефекат мезенхималних матичних ћелија на оштећење јетре узроковано активацијом NKT ћелија”, урађена под менторством проф. др Владислава Воларевића, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, представља оригиналну научну студију која се бави испитивањем имуномодулаторног ефекта мезенхималних матичних ћелија у два анимална модела акутног оштећење јетре.

Ограничења попут недовољног броја донатора органа, финансијски разлози и неопходност доживотне имуносупресије након трансплантације јетре, чине да терапија матичним ћелијама завређује све више пажње у лечењу фулминантног хепатитиса. Због тога се бројна истраживања раде на анималним моделима у циљу проналажења нових терапијских агенаса ефикасних у превенцији или лечењу фулминантног хепатитиса људи.

Због свог имуномодулаторног потенцијала и способности самообнављања и диференцијације, мезенхималне матичне ћелије (енгл. *mesenchymal stem cells*- MSCs) представљају потенцијално средство за лечење ове болести. Иако је *in vitro* постигнута трансдиференцијација MSCs у хепатоците, већина објављених студија указује да се терапијски ефекат MSCs у акутном оштећењу јетре првенствено заснива на имуномодулаторним својствима ових ћелија. На инфламацију у ткиву MSCs реагују тако што модулирају функције ћелија имунског система и то путем директног контакта или секрецијом солубилних фактора.

NKT ћелије представљају јединствену субпопулацију Т лимфоцита, која након снажне активације гликолипидним антигенима презентованим у контексту CD1d молекула, продукује Th1, Th2 и Th17 цитокине. NKT ћелије су најзаступљеније у микроваскуларном одељку јетре и сматра се да имају кључну улогу у патогенези акутног оштећења овог органа, заједно са Т лимфоцитима, макрофагима и дендритским ћелијама. У основи оштећења јетре узрокованом активацијом NKT ћелија налази се индукција апоптозе хепатоцита посредством Fas ligand:Fas интеракције, активација перфорин/гранзим система и продукција проинфламацијских цитокина IFN- $\gamma$ , IL-4 и TNF- $\alpha$ .

Неколико студија је показало терапијски учинак MSCs у акутном хепатитису. MSCs изоловане из различитих ткива делују протективно у експерименталном акутном хепатитису на тај начин што смањују број CD4<sup>+</sup> Т лимфоцита, Gr-1<sup>+</sup> неутрофила и CD11b<sup>+</sup> F4/80<sup>+</sup> макрофага у јетри. MSCs стимулишу продукцију хепатопротективног IL-10 и супримирају експресију TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-4 и FasL у CD4<sup>+</sup> лимфоцитима и Купферовим ћелијама. Међутим, ефекат MSCs на фенотип и функцију NKT ћелија, главних ефекторских ћелија у акутном оштећењу јетре, до сада није објашњен.

Ова студија показује да MSCs ублажавају акутно оштећење јетре узроковано активацијом NKT ћелија, смањујући цитотоксички потенцијал као и способност NKT ћелија јетре да продукују проинфламацијске цитокине. Резултати ове студије указују да су индоламин диоксигеназа (енгл. *indoleamine 2, 3-dioxygenase*- IDO) и индуцибилна азот оксид синтаза (енгл. *inducible nitric oxide synthase*- iNOS) главни солубилни фактор чијом ензимског активношћу MSCs модулирају фенотип и функције NKT ћелија.

## **2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области**

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „Medline“ и „CoBSON“, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*mesenchymal stem cells*“, „*NKT-mediated liver injury*“, „*acute hepatitis*“, „*immunosuppression*“ и „*NKT cells*“ нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Марине Газдић под називом „Ефекат мезенхималних матичних ћелија на оштећење јетре узроковано активацијом NKT ћелија“ представља резултат оригиналног научног рада.

## **2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области**

### **А. Лични подаци**

Др Марина Газдић рођена је 17.12.1987. године у Крагујевцу. Основну школу и Прву крагујевачку гимназију, завршила је као носилац дипломе „Вук Караџић“. Интегрисане академске студије Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу уписала је 2006/2007. године, а дипломирала 2012. године, са просечном оценом 9,42.

Након дипломирања обавила је приправнички лекарски стаж и положила стручни испит за доктора медицине. У току студирања, школске 2007/2008. и 2008/2009. године учествовала је у настави као демонстратор на предмету Хистологија и ембриологија. Школске 2012/2013. године уписала је Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, изборно подручје Матичне ћелије у биомедицинским наукама. Усмени докторски испит је положила у јулу 2013. године са оценом 10 (десет).

Две године је обављала посао сарадника у настави на предмету Генетика. У децембру 2014. године изабрана је у звање асистента на предмету Генетика на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Укључена је у научно-истраживачки рад у Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Аутор је и коаутор у десет радова у часописима од међународног значаја и 2 рада у часописима националног значаја.

Тема докторске дисертације под називом „Ефекат мезенхималних матичних ћелија на оштећење јетре узроковано активацијом NKT ћелија“, прихваћена је 2015. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

#### **Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)**

Кандидат др Марина Газдић остварила је 81 бод по основу радова објављених у целини у међународним или домаћим часописима, бодованих према члану 177. Статута факултета:

1. **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*. 2017. doi: 10.1002/term.2452. **M21**
2. **Gazdic M**, Volarevic V, Arsenijevic A, Erceg S, Moreno-Manzano V, Arsenijevic N, Stojkovic M. Stem Cells and Labeling for Spinal Cord Injury. *Int J Mol Sci*. 2016;18(1). pii: E6. doi: 10.3390/ijms18010006. **M22**
3. **Gazdic M**, Volarevic V, Arsenijevic N, Stojkovic M. Mesenchymal Stem Cells: A Friend or Foe in Immune-Mediated Diseases. *Stem Cell Rev* 2015; 11(2): 280-287. **M22**

#### 2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Сprovedено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација др Марине Газдић садржи следећа поглавља: увод, циљеви студије, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на свеобухватан, јасан и прецизан начин и цитирајући релевантну литературу изложила актуелна сазнања о патогенези акутног хепатитиса и анималног модела аутоимунског хепатитиса, са посебним освртом на улогу NKT ћелија у патогенези ове болести. Такође, описане су фенотипске и функционалне карактеристике мезенхималних матичних ћелија као и њихов имуномодулаторни утицај у акутном хепатитису.

Циљеви и хипотезе истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе, при чему је основни циљ испитивање утицаја MSCs на патогенезу акутног оштећења јетре узрокованог активацијом NKT ћелија.

Материјал и методологија рада су истоветни са наведеним у пријави дисертације. Методологија рада је приказана прецизно и на одговарајући начин. Све технике коришћене у студији су детаљно описане.

Резултати истраживања су систематично приказани и документовани. Показано је да интравенски трансплантиране MSCs мигрирају у јетру мишева и значајно ублажавају акутни хепатитис. Примена MSCs значајно редукује број главних ефекторских ћелија у ткиву јетре и следствено томе концентрације проинфламацијских цитокина у серуму експерименталних животиња. MSCs смањују експресију лиганата који индукују апоптозу хепатоцита FasL, TRAIL и дегранулационог маркера CD107 на NKT ћелијама јетре. Показано је да су IDO и iNOS главни солубилни фактор чијом ензимског активношћу MSCs модулирају фенотип и функције NKT ћелија- смањују њихов хепатотоксички потенцијал и способност да продукују проинфламацијске цитокине, што за последицу има мање оштећење ткива јетре у експерименталном моделу хепатитиса узрокованом активацијом NKT ћелија.

У поглављу Дискусија анализирани су добијени резултати и упоређивани са литературним подацима из исте области. Добијени резултати су дискутовани у контексту

сличних, различитих и конфликтних података о имуномодулаторном ефекту мезенхималних матичних ћелија на патогенезу акутног хепатитиса. Коментари резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их веома прегледним и разумљивим.

Коришћена литература је адекватна по обиму и садржају.

## 2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања садржани су у следећим закључцима:

1. MSCs инхибирају секрецију проинфламацијских цитокина и смањују присуство запаљенских ћелија у ткиву јетре мишева којима је хепатитис изазван применом конканавалина А (енгл. *concanavalin A*- Con A).
2. Смањење параметара системске инфламације у мишева са Con A хепатитисом који су примили MSCs, последица је смањене заступљености проинфламацијских NKT ћелија, дендритских ћелија као и макрофага у ткиву јетре.
3. Примена MSCs утиче на значајно смањење концентрације маркера инфламације у серуму и редукује инфламацију у јетри мишева којима је оштећење јетре изазвано  $\alpha$ -галактоцерамидом (енгл.  *$\alpha$ -galactosylceramide*-  $\alpha$ -GalCer).
4. Примена MSCs смањује инфлукс ефекторских NKT ћелија при чему не утиче на заступљеност дендритских ћелија у јетри мишева којима је индукован  $\alpha$ -GalCer хепатитис.
5. MSCs инхибирају секрецију проинфламацијских цитокина у NKT ћелијама и смањују цитотоксичку активност ових ћелија, смањујући експресију лиганата који индукују апоптозу хепатоцита у инфламираној јетри.
6. Примена MSCs супримира експресију про-апоптотских гена у  $\alpha$ -GalCer хепатитису.
7. Кључни фактори које продукују MSCs и чијом ензимском активношћу супримирају ефекторске функције NKT ћелија и смањују оштећење ткива јетре у хепатитису узрокованом активацијом NKT ћелија су IDO и iNOS.

## 2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригиналан и важан допринос разумевању ефекта мезенхималних матичних ћелија на оштећење јетре узроковано активацијом NKT

ћелија и указују на могуће нове правце испитивања мезенхималних матичних ћелија као терапеутика за лечење акутног хепатитиса.

## **2.7. Начин презентирања резултата научној јавности**

Резултати ове докторске дисертације објављени су у четири међународна часописа, једном категорије M21a (J Tissue Eng Regen Med. 2017 doi: 10.1002/term.2452) и три категорије M21 (Int J Biol Sci. 2017 doi:10.7150/ijbs.20240; BioFactors. 2017 doi: 10.1002/biof.1374; Stem Cell Rev. 2015; 11(2):280-287). Резултати су такође представљени у форми презентација и оралног излагања на више значајних међународних конференција.

## **ЗАКЉУЧАК**

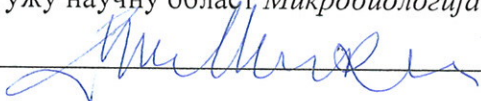
Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Марине Газдић под називом „Ефекат мезенхималних матичних ћелија на оштећење јетре узроковано активацијом НКТ ћелија” сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Марине Газдић, под менторством проф. др Владислава Воларевића, представља оригинални научни рад и има научни и практични значај у разумевању имуномодулаторног ефекта мезенхималних матичних ћелија у акутном оштећењу јетре.

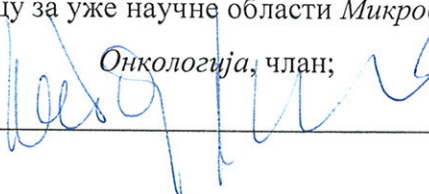
Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Ефекат мезенхималних матичних ћелија на оштећење јетре узроковано активацијом НКТ ћелија“, кандидата др Марине Газдић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

**ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:**

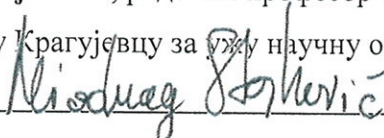
**Проф. др Миодраг Лукић**, редовни професор – емеритус Универзитета у Крагујевцу  
за ужу научну област *Микробиологија и имунологија*, председник;



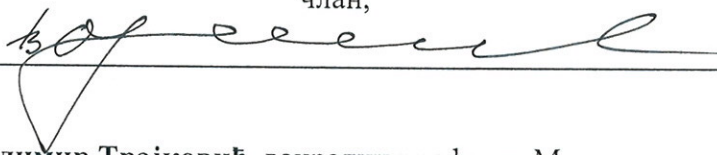
**Проф. др Небојша Арсенијевић**, редовни професор Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крагујевцу за уже научне области *Микробиологија и имунологија* и  
*Онкологија*, члан;



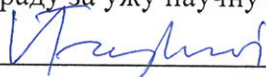
**Проф. др Миодраг Стојковић**, редовни професор Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Генетика*, члан;



**Академик проф. др Владимир Бумбаширевић**, редовни професор Медицинског  
факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Хистологија и ембриологија*,  
члан;



**Проф. др Владимир Трајковић**, ванредни професор Медицинског факултета  
Универзитета у Београду за ужу научну област *Имунологија*, члан.



У Крагујевцу, 21.07.2017. године