

3  
4  
5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6  
7 I PODACI O KOMISIJI:

8  
9 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju: Nastavno-naučno veće Fakulteta  
10 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu na 208. sednici održanoj 16.09.2020 godine

11  
12 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže  
13 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,  
14 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

- 15  
16 1. Dr Slobodanka Vakanjac, redovni profesor, (ginekologija sa andrologijom, 2016),  
17 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu - mentor 1  
18  
19 2. Dr Slavoljub Jović, vanredni profesor, (Fiziologija, 2016), Fakultet veterinarske  
20 medicine Univerziteta u Beogradu - mentor 2  
21  
22 3. Dr Sunčica Borozan, redovni profesor, (Hemija-biohemija, 2011), Fakultet  
23 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu  
24  
25 4. Dr Vera Katić, redovni profesor u penziji (Higijena i tehnologija mleka, 1996), Fakultet  
26 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu  
27  
28 5. Dr Marko Samardžija, redovni profesor u trajnom zvanju (Porodiljstvo i reprodukcija,  
29 2020), Veterinarski fakultet Univerziteta u Zagrebu  
30  
31  
32

33 **Napomena:** redosled članova Komisije je takav da se prvo navode nastavnici sa FVM a zatim članovi iz drugih  
34 institucija, sem u slučaju kada je mentor disertacije iz druge institucije. Tada se mentor iz druge institucije upisuje  
35 pod rednim brojem 2, odnosno posle mentora sa FVM koji je pod rednim brojem 1.  
36

37  
38 II PODACI O KANDIDATU:

- 39  
40 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Svetlana, Marko, Nedić  
41  
42 2. Datum rođenja, opština, Republika: 07.04.1980, Vukovar, Republika Hrvatska  
43  
44 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze\*:  
45  
46 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka\*:  
47

48 III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE:

49  
50 "ISPITIVANJE POVEZANOSTI OKSIDATIVNOG STRESA I LIPIDNOG STATUSA KOD  
51 KRAVA SA SUPKLINIČKIM MASTITISOM IZAZVANIM SA BAKTERIJOM  
52 STAPHYLOCOCCUS AUREUS"  
53  
54

55 IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema,  
56 grafikona i sl.):

57  
58 Doktorska disertacija napisana je na 128 strana kompjuterski obrađenog teksta i sadrži  
59 sledeća poglavlja: Uvod (3 strane), Pregled literature (33 strana), Cilj i zadaci (1 strana),  
60 Materijal i metode (11 strana), Rezultati (40 strana), Diskusija (19 strana), Zaključci (3 strane)

1 i Spisak literature (361 bibliografska jedinica), Izjava o autorstvu, Izjava o istovetnosti  
2 štampane i elektronske verzije doktorskog rada, Izjava o korišćenju i Biografija kandidata.  
3 Rad je dokumentovan sa 33 tabele, 30 grafikona i 6 slika.

4  
5  
6  
7 **V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis**  
8 **svakog poglavlja disertacije: uvoda-do 250 reči, pregleda literature-do 500 reči, cilja i**  
9 **zadataka istraživanja-nije ograničeno, materijal i metoda – nije ograničeno, rezultata –**  
10 **nije ograničeno, diskusije-do 100 reči, spiska referenci-navesti broj referenci u**  
11 **doktorskoj disertaciji):**

12  
13 U **Uvodu** kandidat navodi značaj mastitisa krava kao oboljenja koje i dalje nanosi  
14 velike ekonomske gubitke usled smanjene produkcije i odbacivanje mleka, visokih troškova  
15 terapije i prevremenog izlučivanja životinja. Najčeće izolovani patogen kod supkliničkih  
16 mastitisa krava je *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) koji brzo stiče rezistenciju na  
17 antimikrobne preparate uvedene u terapiju. Veliki deo stada može se inficirati ovim  
18 uzročnikom bez vidljivih kliničkih simptoma. Pored negativnih posledica na zdravlje životinja i  
19 kvalitet mleka, *S. aureus* ugrožava javno zdravlje. Jedan od strateških ciljeva na farmama  
20 mlečnih krava je otkrivanje mastitisa u što ranijem stadijumu, čime se sprečava širenje  
21 infekcije. U poslednje vreme povećan je interes za istraživanje oksidativnog stresa, kao i  
22 jedinjenja koja mogu umanjiti ili ukloniti oštećenja ćelija izazvana ovim stanjem. Pri proceni  
23 oksidativnog statusa mogu se koristiti direktne i/ili indirektno metode, koje obuhvataju  
24 određivanje enzimskih i neenzimskih parametara antioksidativnog statusa, merenje  
25 koncentracija proizvoda oksidativne modifikacije proteina, lipida i DNK, kao i određivanje  
26 ukupnog antioksidativnog kapaciteta samog organizma. I dalje nedostaju jasni dokazi o  
27 uzročnoj vezi između povećanog nivoa oksidativnog stresa i patofizioloških promena vezanih  
28 za specifična oboljenja i mastitis krava. Prisustvo patogenih mikroorganizama u mlečnoj  
29 žlezdi povećava stvaranje slobodnih radikala i potrošnju ukupnog antioksidativnog sistema  
30 organizma. Tokom ove odbrambene reakcije može doći i do oksidativne modifikacije različitih  
31 biomolekula i lokalnog oštećenja tkiva, što dovodi do intenziviranja zapaljenja, oštećenja ćelija  
32 i tkiva vimena. Dobijeni rezultati trebalo bi da doprinesu boljem poznavanju patofiziologije  
33 mastitisa krava, mogućoj primeni ispitivanih parametara kao potencijalnih biomarkera  
34 zapaljenja i oksidativnog stresa u otkrivanju i prognozi mastitisa.

35  
36 **Pregled literature** je predstavljen u okviru pet poglavlja. U prvom poglavlju kandidat  
37 opisuje značaj supkliničkih mastitisa u intenzivnoj govedarskoj proizvodnji izazvanih  
38 *Staphylococcus aureus*. U poglavlju mehanizmi odbrane mlečne žlezde navodi se da njen  
39 imunitet zavisi od koordinisanog delovanja nespecifičnog i specifičnog imuniteta. U poglavlju  
40 lipidni status krava, navodi se značaj lipoproteina, naročito HDL koji ima značajnu  
41 metaboličku funkciju u neutralisanju slobodnih radikala, sprečavanju nastanka inflamacije i  
42 doprinosi transportu malih molekula poput hormona i/ili vitamina. Primarna antioksidativna  
43 zaštita opisana u narednom poglavlju, podrazumeva antioksidanse koji sprečavaju nastanak  
44 reaktivnih kiseoničnih vrsta (ROS), dok sekundarna zaštita neutrališe slobodne radikale, pre  
45 nego što oštete biomolekule. U primarne antioksidativne enzime spadaju: superoksid-  
46 dismutaza (SOD), glutation-peroksidaza, katalaza (CAT) i paraoksonaze (PON).  
47 Paraoksonaza 1 ima višestruku ulogu u detoksikaciji reaktivnih molekula, zaštiti od  
48 oksidativnih oštećenja i lipidne peroksidacije, urođenoj imunološkoj zaštiti, bioaktivaciji lekova  
49 i regulaciji ćelijske proliferacije i apoptoze. U literaturi ima malo podataka o aktivnosti PON1  
50 kod mastitisa krava, dok njegova aktivnost u mleku nije zabeležena. Vodonič-zavisne  
51 oksidaze, mijeloperoksidaze i laktoperoksidaze imaju značajnu baktericidnu ulogu.  
52 Mijeloperoksidaza je jedini enzim u organizmu sisara sposoban da katalizuje razgradnju  
53 vodonik-peroksida do hipohloraste kiseline i drugih radikala sposobnih da iniciraju proces  
54 peroksidacije lipida i proteina, i oštećenje tkiva. Mijeloperoksidaza je enzim koji povezuje  
55 oksidativni stres i inflamaciju. Laktoperoksidaze učestvuju u oksidaciji tiolnih grupa proteina  
56 bakterija, i dovode do oštećenja njihove ćelijske membrane, sprečavajući rast i proliferaciju.  
57 Kada postoji povećano stvaranje slobodnih radikala i smanjena sposobnost njihove  
58 neutralizacije i eliminacije nastaje oksidativni stres. Kao rezultat tog disbalansa, dolazi do  
59 oštećenja ćelija i tkiva koje se može manifestovati oksidativnim modifikacijama ćelijskih  
60 makromolekula, apoptozom i strukturnim oštećenjem tkiva. Ciljni makromolekuli su lipidi,

1 proteini i DNK. Lipidna peroksidacija je autokatalitički, progresivan i najčešće ireverzibilan  
2 proces a hidroperoksidi su njeni glavni primarni proizvodi, posredovani slobodnim radikalima.  
3 Najpoznatiji toksični proizvod lipidne peroksidacije je malondialdehid (MDA), koji se može  
4 unakrsno vezati za proteine i fosfolipide ćelijskih membrana, i intenzivirati oksidativna  
5 oštećenja biomolekula. Nastale promene u konformaciji proteina dovede do promene  
6 enzimske aktivnosti, transportne uloge, i utiču na vezivanje liganada za receptore, mogu da  
7 izazovu međuproteinske interakcije, degradaciju proteina, i nastanak novih antigena. U zaštiti  
8 proteina od oksidativnog oštećenja, značajnu ulogu imaju tiolne grupe, koje spadaju u  
9 najvažnije endogene neenzimske antioksidanse, jer prve podležu oksidaciji u ćelijama i  
10 sprečavaju oksidaciju drugih funkcionalnih grupa enzima i proteina, i regenerišu druge  
11 antioksidanse. U literaturi postoje podaci da su mastitisi povezani sa povišenim  
12 koncentracijama reaktivnih azotovih vrsta (RNS), kao rezultat aktiviranja makrofaga na  
13 prisustvo patogena što ukazuje na značaj nitrozativnog stresa tokom mastitisa. Kao posledica  
14 ovog disbalansa dolazi do stvaranja povećane koncentracije uznapredovalih proizvoda  
15 oksidacije proteina (AOPP), što je ireverzibilan proces i može biti odraz supkliničkih mastitisa.  
16 Poslednje poglavlje ističe ulogu oksidativnog stresa u razvoju bolesti kod mlečnih krava, sa  
17 posebnim osvrtom na supklinički mastitis. Detaljnije razumevanje veze između oksido-  
18 redukcionog statusa organizma i pojave mastitisa moglo bi dovesti do razvoja efikasnije  
19 strategije u prevenciji ovog oboljenja. Ispitivanje parametara oksidativnog statusa krava sa  
20 mastitisom može doprineti boljem poznavanju patofiziologije mastitisa i ranom otkrivanju  
21 bolesti, kako bi se blagovremeno započela terapija i smanjili ekonomski gubitci.

22  
23 **Cilj** doktorske disertacije je bio da se ispita oksidativni status krava sa supkliničkim  
24 mastitisima izazvanim sa *S. aureus* preko parametara antioksidativne zaštite i oksidativnog  
25 stresa, kao i da se utvrdi povezanost datih parametara sa lipidnim statusom jedinke. Takođe,  
26 cilj je da se ispita mogućnost upotrebe nekog od markera u dijagnostici i praćenju supkliničkih  
27 mastitisa.

28  
29 Da bi se ostvarili navedeni ciljevi, postavljeni su sledeći zadaci:

- 30 • Izolacija i identifikacija *S. aureus* iz uzoraka mleka sa povećanim brojem somatskih  
31 ćelija (*eng.* somatic cell count – SCC)
- 32 • Određivanje lipidnog statusa jedinki (određivanje ukupnog holesterola, HDL, LDL i  
33 triglicerida).
- 34 • Određivanje aktivnosti antioksidativnih enzima: superoksid-dizmutaze (SOD),  
35 katalaze (CAT), paraoksonaze (PON1), arilesteraze (PON1-ARE), mijeloperoksidaze  
36 (MPO) i laktoperoksidaze (LPO).
- 37 • Određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta (preko DPPH i ABST testa).
- 38 • Određivanje oštećenja ćelijske membrane preko: koncentracije malondialdehida  
39 (MDA), koncentracije lipidnih hidroperoksida (LOOH) i osmotske fragilnosti eritrocita.
- 40 • Određivanje parametara reaktivnih azotovih vrsta (koncentracija nitrita).
- 41 • Određivanje koncentracije tiolnih (SH-) grupa i uznapredovalih proizvoda oksidacije  
42 proteina (AOPP).
- 43 • Praćenje reaktivnih kiseoničnih vrsta (preko koncentracije vodonik-peroksida).

44  
45 **Materijal i metode:** Istraživanje je sprovedeno na komercijalnoj farmi sa približno 1200  
46 mlečnih krava, starosti 2-5 godina, koje su držane u istim ambijentalnim uslovima. Kod svih  
47 krava za ocenu telesne kondicije (*eng.* body score condition - BSC) korištena je skala  
48 Edmondson i sar. (1989). Kako bi se izbegao uticaj tranzicionog perioda na ispitivane  
49 parametre, uzorci krvi i mleka su uzimani od 32 do 102 dana nakon telenja. Krave kod kojih  
50 su uočeni znakovi kliničkog mastitisa, ili nekog drugog oboljenja su isključene iz ogleđa. Svi  
51 uzorci pozitivni na Kalifornija mastitis test (KMT) su u roku od 2h dopremani u laboratoriju gde  
52 je dodatno izvršeno mikroskopsko određivanje SCC i mikrobiološka izolacija i identifikacija  
53 uzročnika. Uzorci negativni na *S. aureus*, kontaminirani uzorci (kod kojih je izolovano više od  
54 tri različita mikroorganizma), kao i uzorci kod kojih je izolovan neki drugi mikroorganizam su  
55 isključeni iz ogleđa.

56 U ogleđ su bile uključene 104 mlečne krave. Kod 92 krave (135 uzoraka mleka) *S.*  
57 *aureus* je izolovan. Na osnovu broja kolonija (*eng.* colony forming unit - CFU) *S. aureus* po  
58 mililitru mleka krave sa supkliničkim mastitisom izazvanim *S. aureus* (SCM) su podeljene  
59 dalje na dve grupe SCM<sub>1</sub> (< 1000 CFU/mL, n = 37 krava, 68 četvrti mleka) i SCM<sub>2</sub> (≥ 1000  
60 CFU/mL, n = 55, 67 četvrti). Obe grupe su imale približne vrednosti SCC određivane

1 mikroskopski. Kontrolnu grupu (CON) krava činile su zdrave krave koje su bile KMT i  
2 mikrobiološki negativne (n = 12, 48 uzoraka iz pojedinačnih četvrti mlečne žlezde). Nije  
3 postojala značajna razlika u starosti, BSC i danima nakon telenja između ispitivanih grupa  
4 krava.

5 Uzorci krvi sakupljeni su iz *vena coccygea* u vakutajnere bez antikoagulansa za  
6 izdvajanje seruma, i u vakutajnere sa litijum-heparinom kao antikoagulansom, za odvajanje  
7 plazme i eritrocita. Plazma je izdvojena nakon centrifugiranja 10 mL krvi sa antikoagulansom,  
8 na 3000 rpm u trajanju od 10 minuta. Nakon odvajanja leukocita i trombocita, eritrociti su  
9 ispirani tri puta fiziološkim rastvorom, a svako ispiranje je praćeno centrifugiranjem u trajanju  
10 od 10 minuta. Serum je izdvojen na sobnoj temperaturi, nakon stajanja od 2h, i centrifugiranja  
11 na 3000 rpm u trajanju od 15 min. Uzorkovanje mleka je izvršeno nakon čišćenja vimena i  
12 dezinfekcije pomoću gaza natopljenih u 70% alkohol. Prvi mlazevi mleka su odbacivani,  
13 nakon čega su uzorci sakupljeni u sterilne epruvete od 10 mL. Mlečni serum je izdvojen  
14 dodavanjem 0,5 mL rastvora sircetne kiseline u 9,5 mL mleka, i inkubiranja na 42 °C, 10  
15 minuta. Nakon hlađenja i centrifugiranja na 750 rpm u trajanju od 15 minuta, 1 mL  
16 supernatanta je odličen u plastične test epruvete od 1,5 mL (Ependorf tubice). Krvna plazma,  
17 eritrociti, krvni i mlečni serum su zamrzavani na – 20 °C i čuvani do analize.

18  
19 U skladu sa postavljenim ciljem i zadacima, primenjene su različite laboratorijske tehnike i  
20 metode:

#### 21 **Određivanje broja somatskih ćelija u mleku**

22 Između ispitivanih grupa krava nisu postojale značajne razlike u starosti, BSC i  
23 danima nakon telenja. Ispitivanje SCC u uzorcima mleka izvršeno je svetlosnom  
24 mikroskopijom, primenom referentne metode prema SRPS EN ISO 13366-1:2010.

#### 25 **Mikrobiološka ispitivanja mleka**

26 Izolacija *S.aureus* izvršena je standardnim mikrobiološkim metodama. Svi uzorci su  
27 zasejavani na mikrobiološke podloge istog dana kada su uzorkovani. Uzorci mleka su pažljivo  
28 promućkani i 0,01 mL mleka je zasejan na krvni agar (LabM, Velika Britanija) sa dodatkom  
29 7% ovčije krvi i Baird-Parker agar (LabM, Velika Britanija). Ploče su inkubirane aerobno 24-48  
30 h na 37 °C, nakon čega je na krvnom agaru proveravano prisustvo α-hemolize i β-hemolize.  
31 Sposobnost sinteze katalaze određena je pomoću 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, dok je za određivanje  
32 sposobnosti sinteze koagulaze stafilokoka korištena liofilizovana plazma kunića (Abtek,  
33 Liverpool, UK). Kao test za potvrdu u postupku identifikacije bakterija iz roda *Staphylococcus*  
34 primenjivani su komercijalni biohemijski testovi Microgen Staph ID System (Camberley, UK).  
35 Konačna identifikacija izvršena je pomoću kompjuterskog programa nakon unosa rezultata.  
36 Broj kolonija *S. aureus* je određivan posle razblaženja mleka, i zasejavanja 0,1 mL od svakog  
37 razblaženja na površinu selektivnog Baird-Parker agara (LabM, Velika Britanija) standardnom  
38 metodom SRPS EN ISO 6888-1:2009.

#### 39 **Određivanje lipidnog statusa krava**

40 Lipidni status krava je određivan spektrofotometrijski na automatskom biohemijskom  
41 aparatu BioSystems A15. Određivana je koncentracije ukupnog holesterola, triglicerida, HDL i  
42 LDL iz krvnog seruma ispitivanih životinja.

#### 43 **Određivanje parametara oksidativnog stresa**

44 Aktivnost antioksidativnih enzima superoksidne-dizmutaze i katalaze je određena u  
45 suspenziji eritrocita i mlečnom serumu, spektrofotometrijski, korišćenjem gotovog Ransod kita  
46 (preko ksantin-oksidge) na 505 nm i UV kinetičkom metodom u prisustvu vodonik-peroksida  
47 na 240 nm.

48 Aktivnosti paraoksonaze (PON1), arilesteraze (PON1-ARE), mijeloperoksidaze  
49 (MPO) i lakteroksidaze (LPO) su određene u krvnom i mlečnom serumu  
50 spektrofotometrijski u prisustvu paraoksona, fenil-acetata, o-diazinona i vodonik-peroksida  
51 kao supstrata, praćenjem promene apsorbance na 412, 270, 550 i 412 nm, prema redosledu  
52 navođenja.

53 Stepen oštećenja ćelijske membrane je praćen preko koncentracija malondialdehida  
54 (MDA) u suspenziji eritrocita i u mlečnom serumu, sa tiobarbiturnom kiselinom na 535 nm, i  
55 preko koncentracije lipidnih hidroperoksida (LOOH) u plazmi i mlečnom serumu, u prisustvu  
56 gvožđe(III)-ksilenol-oranža na 560 nm.

57 Osmotska fragilnost je ispitivana u svežim eritrocitima u različitim koncentracijama  
58 NaCl, spektrofotometrijski na 540 nm.

1 Određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta u krvnom i mlečnom serumu  
2 praćeno je pomoću dva testa: 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil radikala (DPPH) i 2,2'-azino-bis (3-  
3 etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline (ABST) spektrofotometrijski na 515 i 734 nm.

4 Koncentracija uznapredovalih proizvoda oksidacije proteina (AOPP) u uzorcima krvne  
5 plazme i mlečnog seruma određivana je spektrofotometrijski u prisustvu kalijum-jodida na 340  
6 nm.

7 Stvaranje reaktivnih azotovih vrsta je praćeno u krvnoj plazmi i mlečnom serumu  
8 preko koncentracije nitrita ( $\text{NO}_2^-$ ) u krvnoj plazmi, Griss-ovim reagensom na 540 nm na ELISA  
9 čitaču (Plate reader, Nubenco Enterprises, INC).

10 Stvaranje reaktivnih kiseoničnih vrsta u krvnom i mlečnom serumu je praćeno preko  
11 koncentracije vodonik-peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) sa fenol-crvenim u prisustvu peroksidaze,  
12 spektrofotometrijski na 610 nm.

13 Nedenaturišuća ili nativna poliakrilamid gel elektroforeza (eng. Native PAGE) je  
14 korištena za određivanje relativne aktivnosti izoenzima laktat-dehidrogenaze (LDH1-5) u  
15 krvnoj plazmi.

16 Sva spektrofotometrijska merenja su izvedena na spektrofotometru CECIL CE 2021 UV/VIS  
17 (UK).

### 18 Statistička obrada podataka

19 Statistička obrada podataka izvršena je pomoću GraphPad Prism 6.00 statističkog softvera  
20 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Normalna distribucija je testirana  
21 D'Agostino-Pearson omnibus statističkim testom. Statistička značajnost razlika ispitivanih  
22 vrednosti ( $P$ ) utvrđena je upotrebom ANOVA testa, Tukey-ovim testom. Kao statistički  
23 značajne uzete su razlike na nivou  $P < 0,05$ . Ukoliko distribucija nije pratila normalnu  
24 raspodelu, primenjivan je Kruskal-Wallis test. Rezultati su prikazani kao srednje vrednosti  $\pm$   
25 standardna greška (SE) za normalnu raspodelu i kao interkvartilne vrednosti ukoliko  
26 vrednosti nisu pratile normalnu distribuciju. Stepem povezanosti ispitivanih parametara  
27 utvrđivan je Pearson-ovim i Spearman-ovim koeficijentom korelacije ( $r$ ) i proverom statističke  
28 značajnosti koeficijenta korelacije ( $P < 0,05$ ). Jačina korelacije je definisana prema Evans-u  
29 (1996). Rezultati analize ispitivanih parametara prikazani su tabelarno i grafički. H50 je  
30 utvrđen Sigmoidalnim (Boltzman-ovim) testom korišćenjem Origin 9.0 Professional programa.

31  
32 U poglavlju **Rezultati** ispitivanja kandidat je pregledno i detaljno predstavio rezultate  
33 ispitivanja.

34 U grupi krava sa brojem *S. aureus*  $< 1000$  CFU/mL, SCC je iznosio od 0,51 – 6,05 x  
35  $10^6$ , dok je u grupi krava  $\geq 1000$  CFU/mL *S. aureus*, SCC iznosio 0,65 – 7,84 x  $10^6$ .

36 Na osnovu rezultata osmotske fragilnosti eritrocita utvrđen je stepen hemolize ( $H_{50}$ )  
37 eritrocita kontrolne grupe od  $0,4619 \pm 0,0042$ . Povećanje  $H_{50}$  od 11,26% je zabeleženo u  
38 SCM<sub>1</sub> grupi ( $0,5139 \pm 0,0054$ ), dok je povećanje  $H_{50}$  od 39,01% zabeleženo u SCM<sub>2</sub> grupi  
39 ( $0,6421 \pm 0,0047$ ), u poređenju sa  $H_{50}$  kod kontrolne grupe krava ( $P < 0,001$ ). Između  
40 eksperimentalnih grupa  $H_{50}$  se razlikovao za 27,75% ( $P < 0,001$ ).

41 Značajno niže koncentracije HDL uočene su SCM<sub>2</sub> grupi u poređenju sa  
42 koncentracijama kod zdravih krava kontrolne grupe ( $P < 0,01$ ). Poređenjem koncentracije  
43 HDL između grupa krava sa SCM značajno niže vrednosti su utvrđene u SCM<sub>2</sub> grupi u  
44 odnosu na SCM<sub>1</sub> grupu ( $P < 0,01$ ). Dobijeni rezultati su ukazali i na značajno povišenu  
45 koncentraciju LDL u grupama krava sa supkliničkim mastitisom, u SCM<sub>1</sub> ( $P < 0,05$ ), i u SCM<sub>2</sub>  
46 grupi ( $P < 0,01$ ) u odnosu kontrolnu grupu krava. Poređenjem koncentracija triglicerida i  
47 ukupnog holesterola između grupa krava sa supkliničkim mastitisom i kontrolne grupe krava  
48 nije utvrđena statistički značajna razlika.

49 U našem istraživanju je pokazano da infekcija vimena krava *S. aureus* dovodi do  
50 povećanja koncentracije  $\text{H}_2\text{O}_2$  u krvnom serumu SCM<sub>2</sub> grupe u poređenju sa CON ( $P < 0,05$ ).  
51 U mlečnom serumu uočeno je značajno povećanje koncentracije  $\text{H}_2\text{O}_2$  u obe SCM grupe u  
52 poređenju sa kontrolnom grupom ( $P < 0,01$ ).

53 Analizom aktivnosti SOD u eritrocitima krava sa SCM i kontrolne grupe primećena je  
54 inhibicija aktivnosti ovog enzima u prisustvu infekcije *S. aureus*, ali bez statističke značajnosti  
55 ( $P > 0,05$ ). U mlečnom serumu utvrđeno je značajno sniženje aktivnosti SOD u SCM<sub>1</sub> grupi  
56 od  $37,61 \pm 4,76$  U/mL ( $P < 0,05$ ) i SCM<sub>2</sub> grupi od  $30,55 \pm 4,62$  U/mL ( $P < 0,01$ ) u poređenju  
57 sa kontrolnom grupom ( $58,69 \pm 8,20$  U/mL).

58 Ispitivanjem aktivnosti enzima CAT u eritrocitima i u mlečnom serumu utvrđeno je  
59 povećanje aktivnosti ovog enzima usled supkliničke infekcije u obe SCM grupe u poređenju  
60 sa kontrolnom grupom ( $P < 0,001$ ). Poređenjem vrednosti aktivnosti katalaze u mlečnom

1 serumu između grupa krava sa SCM utvrđeno je povećanje aktivnosti SCM<sub>2</sub> grupe od 196,80  
2 ± 22,53 U/mL, u poređenju sa SCM<sub>1</sub> grupom od 111,60 ± 10,64 U/mL (P < 0,01). Aktivnost  
3 ovog enzima u kontrolnoj grupi iznosila je 54,68 ± 5,72 U/mL.

4 Analizom paraoksonazne aktivnosti PON1 utvrđeno je sniženje aktivnosti ovog  
5 enzima u krvnom serumu krava SCM<sub>2</sub> grupe (P < 0,05) u poređenju sa kontrolnom i SCM<sub>1</sub>  
6 grupom. Sniženje arilesterazne aktivnosti PON1 - ARE u našem istraživanju utvrđeno je u  
7 krvnom serumu krava sa SCM (P < 0,01) u poređenju sa kontrolom. U mlečnom serumu  
8 krava utvrđena je niža aktivnost PON1 - ARE u i u SCM<sub>1</sub> grupi iznosila je 307,70 ± 12,11  
9 mU/mL (P < 0,05), i u SCM<sub>2</sub> grupi 282,10 ± 11,25 mU/mL (P < 0,01) u poređenju sa  
10 kontrolnom grupom 366,40 ± 15,18 mU/mL. Poređenjem vrednosti PON1 - ARE u mlečnom  
11 serumu krava sa supkliničkim mastitisom utvrđeno je statistički značajno sniženje aktivnosti u  
12 SCM<sub>2</sub> grupi u poređenju sa SCM<sub>1</sub> grupom (P < 0,05).

13 U našem istraživanju utvrđena je viša aktivnost MPO u krvnom serumu krava SCM<sub>1</sub>  
14 grupe od 132,70 ± 15,85 U/mL (P < 0,05) i SCM<sub>2</sub> grupe od 222,70 ± 22,91 U/mL (P < 0,01) u  
15 poređenju sa kontrolnom grupom (73,52 ± 9,47 U/mL). Međusobnim poređenjem aktivnosti  
16 MPO u krvnom serumu krava sa SCM utvrđeno je povećanje aktivnosti MPO u SCM<sub>2</sub> grupi u  
17 odnosu na SCM<sub>1</sub> grupu (P < 0,01). U mlečnom serumu utvrđeno je povećanje aktivnosti MPO  
18 kao posledica stafilokokne infekcije vimena u obe SCM grupe u poređenju sa kontrolnom,  
19 kod SCM<sub>1</sub> grupe (P < 0,05) i SCM<sub>2</sub> grupe (P < 0,001). Poređenjem vrednosti između grupa  
20 krava sa SCM utvrđeno je statistički značajno povećanje aktivnosti MPO u mlečnom serumu  
21 SCM<sub>2</sub> grupe od u poređenju sa SCM<sub>1</sub> grupom (P < 0,01).

22 Značajno povećanje aktivnosti LPO uočeno je u krvnom serumu obe SCM grupe u  
23 poređenju sa kontrolnom grupom (P < 0,001). Povećanje aktivnosti LPO u mlečnom serumu  
24 dokazano je u SCM<sub>1</sub> grupi za 39,58% (P < 0,05) i u SCM<sub>2</sub> grupi od 2,32 puta (P < 0,001) u  
25 poređenju sa aktivnošću u kontrolnoj grupi.

26 Ispitivanjem sposobnosti neutralizacije radikala DPPH testom u krvnom serumu  
27 utvrđene su niže koncentracije DPPH u SCM<sub>2</sub> grupi od 46,95 ± 1,32 µg/mL Trolox Eq u  
28 poređenju sa kontrolnom grupom (P < 0,05). U mlečnom serumu utvrđene su niže  
29 koncentracije DPPH u SCM<sub>1</sub> grupi 26,31 ± 1,17 µg/mL Trolox Eq (P < 0,05), i u SCM<sub>2</sub> grupi  
30 22,96 ± 1,11 µg/mL Trolox Eq (P < 0,001) u poređenju sa kontrolnom grupom (33,59 ± 3,11  
31 µg/mL Trolox Eq). Međusobnim poređenjem utvrđeno je sniženje DPPH u mlečnom serumu  
32 SCM<sub>2</sub> grupe (P < 0,05) u odnosu na koncentracije izmerene u SCM<sub>1</sub> grupi.

33 U našem istraživanju je utvrđeno sniženje TAC preko ABTS testa u krvnom serumu  
34 SCM<sub>1</sub> (P < 0,05) i SCM<sub>2</sub> grupe (P < 0,01) u poređenju sa kontrolnom grupom. U mlečnom  
35 serumu utvrđene su niže koncentracije ABTS kod krava sa SCM u poređenju sa kontrolom (P  
36 < 0,001).

37 Ispitivanjem stepena lipidne peroksidacije utvrđen je veći stepen oštećenja ćelijske  
38 membrane eritrocita kod SCM<sub>2</sub> grupe u poređenju sa kontrolnom grupom (P < 0,05). Više  
39 koncentracije MDA u mlečnom serumu utvrđene u SCM<sub>1</sub> (P < 0,05) i SCM<sub>2</sub> grupi (P < 0,01) u  
40 poređenju sa kontrolnom grupom. Poređenjem koncentracije MDA u mlečnom serumu  
41 između grupa krava sa SCM utvrđene su više koncentracije MDA u SCM<sub>2</sub> grupi u odnosu na  
42 SCM<sub>1</sub> grupu (P < 0,05). Ispitivanjem koncentracije lipidnih hidroperoksida uočene su značajno  
43 više koncentracije LOOH u krvnoj plazmi i mlečnom serumu kod grupa krava sa supkliničkim  
44 mastitisom u odnosu na kontrolnu grupu (P < 0,05).

45 U našem istraživanju utvrđene su više koncentracije NO<sub>2</sub><sup>-</sup> u krvnoj plazmi u SCM<sub>1</sub>  
46 grupe od 5,71 ± 0,5 µM (P < 0,01), i u SCM<sub>2</sub> grupi od 6,70 ± 0,48 µM (P < 0,001) u poređenju  
47 sa kontrolnom grupom (2,58 ± 0,24 µM). Koncentracije NO<sub>2</sub><sup>-</sup> u mlečnom serumu su se  
48 razlikovale kako međusobno (P < 0,01), tako i u poređenju sa kontrolnom grupom (P < 0,01 i  
49 P < 0,001, po redosledu navođenja).

50 Ispitivanjem koncentracije uznapredovalih proizvoda oksidacije proteina utvrđene su  
51 više koncentracije AOPP u krvnoj plazmi SCM<sub>1</sub> od 4,57 ± 0,07 µmol/mL ChT Eq (P < 0,01) i  
52 SCM<sub>2</sub> grupe od 5,86 ± 0,27 µmol/mL ChT Eq (P < 0,001), u poređenju sa kontrolnom grupom  
53 (4,23 ± 0,03 µmol/mL ChT Eq). Poređenjem koncentracija AOPP između grupa krava sa  
54 supkliničkim mastitisom utvrđene su više koncentracije AOPP u krvnoj plazmi SCM<sub>2</sub> grupe u  
55 odnosu na koncentracije u SCM<sub>1</sub> grupi (P < 0,01). U mlečnom serumu više koncentracije  
56 AOPP utvrđene su u SCM<sub>1</sub> (P < 0,05) i SCM<sub>2</sub> grupi (P < 0,01) u poređenju sa kontrolom.

57 Analizom koncentracije SH-grupa utvrđene su niže koncentracije izazvane prisustvom  
58 stafilokokne infekcije, u krvnoj plazmi SCM<sub>2</sub> grupe (P < 0,01) u poređenju sa kontrolnom  
59 grupom. Niže koncentracije SH-grupa utvrđene su u mlečnom serumu krava sa SCM (P <

0,001). Značajno niže koncentracije SH-grupa dokazane su u krvnom i mlečnom serumu SCM<sub>2</sub> grupe u odnosu na SCM<sub>1</sub> grupu (P < 0,05).

Analizom aktivnosti LDH u krvnom serumu primećen je porast aktivnosti ovog enzima u prisustvu infekcije *S. aureus*, ali bez statističke značajnosti (P > 0,05). U mlečnom serumu utvrđeno je povećanje aktivnosti LDH u SCM<sub>1</sub> od 195,70 ± 18,01 U/L (P < 0,05) i od 218,80 ± 24,46 U/L SCM<sub>2</sub> grupi (P < 0,01) u poređenju sa kontrolnom grupom (150,90 ± 21,63 U/L). Analizom relativne aktivnosti izoenzima LDH5 utvrđena je povišena aktivnost u prisustvu infekcije vimena *S. aureus* u SCM<sub>1</sub> od 7% (P < 0,05) i u SCM<sub>2</sub> grupi od 10% (P < 0,01) u poređenju sa relativnom aktivnošću ovog izoenzima kod kontrolnih krava od 4%. Relativna aktivnost izoenzima LDH5 se međusobno razlikovala između grupa krava sa supkliničkim mastitisom (P < 0,05).

#### **Korelacione analize između pojedinih ispitivanih parametara**

Positivna korelacija utvrđena je između arilesterazne aktivnosti PON1 i koncentracije ukupnog holesterola u svim ispitivanim grupama krava (P < 0,05). Utvrđena korelacije bila je umerene jačine u kontrolnoj grupi (r = 0,5814), slaba u SCM<sub>1</sub> (r = 0,3713) i u SCM<sub>2</sub> (r = 0,3713).

Uočena je pozitivna korelacija (P < 0,001) arilesterazne aktivnosti PON1 i HDL u svim ispitivanim grupama, i negativna korelacija PON1-ARE i LDL (P < 0,05).

Analizom korelacione povezanosti između aktivnosti PON1 – ARE i paraoksonazne aktivnosti PON1 utvrđena je pozitivna korelacija u krvnom serumu svih ispitivanih grupa. Uočena korelacija bila je jaka kod kontrolne grupe krava, (r = 0,6934; P < 0,05) i SCM<sub>1</sub> grupe (r = 0,7166; P < 0,001), dok je kod SCM<sub>2</sub> grupe utvrđena slaba korelacija između ispitivanih parametara (r = 0,3321; P < 0,05). Jaka pozitivna korelacija (P < 0,001) utvrđena je između aktivnosti PON1-ARE u krvnom serumu i aktivnosti ovog enzima u mlečnom serumu, i to veoma jaka u kontrolnoj grupi (r = 0,8186;), i jaka u SCM<sub>1</sub> (r = 0,6941) i SCM<sub>2</sub> grupi (r = 0,6046).

Negativna korelacija između PON1-ARE i SCC (P < 0,05), i PON1-ARE i LOOH (P < 0,001) utvrđena je kod svih ispitivanih grupa krava.

Positivna korelacija utvrđena je između SCC u mleku i H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> u mlečnom serumu (P < 0,05), i SCC i LOOH u kontrolnoj grupi (P < 0,05) i u SCM<sub>1</sub> i SCM<sub>2</sub> grupi (P < 0,01).

Negativna povezanost između SCC i ukupnog antioksidativnog kapaciteta određenog preko DPPH testa dokazana je u svim ispitivanim grupama (P < 0,05).

Positivna korelacija utvrđena je između aktivnosti enzima katalaze u eritrocitima i mijeloperoksidaze u krvnom serumu (P < 0,05). Jaka pozitivna korelacija u krvnom serumu između H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-zavisnih enzima, MPO i LPO, utvrđena je kod kontrolne grupe (r = 0,6680; P < 0,01) i kod SCM<sub>2</sub> grupe (r = 0,7619, P < 0,01), dok je slaba korelacija utvrđena kod SCM<sub>1</sub> grupe (r = 0,2671; P < 0,05).

Negativna korelaciona analiza između koncentracije nitrita i SH-grupa (P < 0,05) dokazana je u svim ispitivanim grupama.

U poglavlju **Diskusija** dobijeni rezultati koji se odnose na supkliničke mastitise izazvane *S. aureus*, parametre lipidnog statusa, parametre oksidativnog stresa i stepena oštećenja ćelijske membrane i proteina, ukupni antioksidativni kapacitet, protumačeni su i poređeni sa rezultatima drugih istraživača koji su se bavili sličnom problematikom. U diskusiji je otvoren niz pitanja koja se odnose na oštećenja mlečne žlezde, povezanost infekcije sa pojavom i progresijom oksidativnog stresa, na osnovu velikog broja ispitivanih parametara u krvi i mleku krava koji ukazuju na promene oksido-redukcionih procesa u organizmu. Takođe, diskutovan je uticaj broja *S. aureus* i somatskih ćelija na stepen oštećenja lipida i proteina, kao i međusobna povezanost pojedinih ispitivanih parametara.

## **VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj disertaciji):**

U skladu sa postavljenim ciljevima ove doktorske disertacije i na osnovu analize dobijenih rezultata izvedeni su sledeći zaključci:

1. Prisustvo *S. aureus* u mlečnoj žlezdi krava dovodi do značajnog povećanog broja somatskih ćelija u mleku, koje su izvor reaktivnih kiseoničkih radikala u borbi protiv ovog patogena.

- 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59
2. Polimorfonuklerani leukociti proizvode reaktivne kiseonične vrste, što je dokazano povećanom koncentracijom vodonik-peroksida u krvnom serumu u grupi krava sa većim brojem CFU/mL *S. aureus*. U mlečnom serumu utvrđene su veće koncentracije vodonik-peroksida u obe grupe krava sa supkliničkim mastitisom. *Staphylococcus aureus* poseduje enzim katalazu odgovornu za neutralizaciju vodonik-peroksida, što je potvrđeno njegovom nižim koncentracijom od 18% u grupi krava sa većim brojem *S. aureus*.
3. Supklinički mastitis krava izazvan *S. aureus* dovodi do promene u metabolizmu lipida, indukujući inflamatorno stanje organizma, smanjujući antioksidativnu i antiinflamatornu ulogu HDL i povećavajući koncentraciju LDL lipoproteinske čestice.
4. Supklinički mastitis izazvan sa *S. aureus* dovodi do oksidativnog stresa, menjajući aktivnost enzima antioksidativne odbrane. Inhibicija aktivnosti superoksid-dismutaze je izraženija u mlečnom serumu i iznosi do 48,81%. Visok nivo katalazne aktivnosti, dokazan u eritrocitima od 42,03% i 44,19% kod krava sa supkliničkim mastitisom ne zavisi od broja bakterija. U mlečnom serumu aktivnost ovog enzima je povećana 2,04 i 3,60 puta i zavisi od broja *S. aureus*. Povećana aktivnost katalaze se sa sigurnošću može smatrati indikatorom bakterijske infekcije vimena.
5. Paraoksonaza 1 prema paraoksonu kao supstratu, osetljiva je na inflamaciju, i njena aktivnost je smanjena tokom infekcije kod krava sa brojem *S. aureus*  $\geq$  1000 CFU/mL do 22,72%, i smatra se negativnim proteinom akutne faze. Jaka korelaciona povezanost između paraoksonazne i arilesterazne aktivnosti PON1, kontrolne grupe i grupa krava sa supkliničkim mastitisom, ukazuje na odsustvo polimorfizma ovog enzima kod krava.
6. Aktivnost PON1-ARE u krvnom serumu, prvi put dokazana u našoj studiji u mlečnom serumu krava sa supkliničkim mastitisom, smanjena je u prisustvu *S. aureus*. Jaka pozitivna korelacija između aktivnosti PON1-ARE u krvi i PON1-ARE u mlečnom serumu, ukazuje da je poreklo ovog enzima u mleku najverovatnije iz krvi, i da se ne sintetiše u mlečnoj žlezdi. Pozitivna korelacija između PON1-ARE i koncentracije HDL i negativna korelacija sa LDL, ukazuju da je aktivnost PON1-ARE osetljiviji biomarker na prisustvo *S. aureus* i povećan broj somatskih ćelija, kao i osetljiviji indikator oksidativnih procesa izazvanih na lipoproteinima.
7. Kod krava sa supkliničkim mastitisom iscrpljeni su antioksidativni odbrambeni mehanizmi kako u mlečnoj žlezdi, tako i u organizmu krava u poređenju sa zdravim kravama, što je potvrđeno sniženjem koncentracije TAC korišćenjem DPPH i ABTS testa visoke osetljivosti. Direktna povezanost antioksidativnog statusa i intenziteta inflamacije mlečne žlezde, potvrđena je negativnom korelacijom između SCC i TAC.
8. Usled supkliničkog mastitisa narušena je struktura ćelijske membrane. Veći stepen ćelijskog oštećenja, praćen preko koncentracije MDA i lipidnih hidroperoksida dokazan je u mlečnom serumu i zavisi od broja *S. aureus* i SCC. Pozitivna korelaciona analiza između SCC i LOOH, ukazuje na moguću primenu LOOH kao osetljivijeg biomarkera u praćenju SCM.
9. Povećana osmotska fragilnost membrane eritrocita kod krava sa supkliničkim mastitisom, povezana je sa povećanom lipidnom peroksidacijom, prouzrokovanom prekomernim nastankom i nakupljanjem ROS i RNS. Povećani stepen hemolize eritrocita zavisi od broja *S. aureus*, i u grupi krava sa brojem *S. aureus*  $\geq$  1000 CFU/mL ovo povećanje H<sub>50</sub> je iznosilo 39,01%.



- 1 10. Prisustvo *S. aureus* u mlečnoj žlezdi uvodi organizam u nitrozativni stres, što je  
2 potvrđeno veoma visokim koncentracijama nitrita u krvnoj plazmi i mlečnom  
3 serumu krava sa supkliničkim mastitisom. Nagrađene reaktivne azotove vrste  
4 dovode do oksidacije i smanjenja koncentracije ukupnih SH-grupa u krvnom i  
5 mlečnom serumu, što je dokazano jakim negativnom korelacijom između ova  
6 dva parametra u kontrolnoj grupi krava i umerenom korelacijom kod krava sa  
7 supkliničkim mastitisom.  
8  
9 11. Rani marker u otkrivanju supkliničkog mastitisa i proceni oštećenja proteina, prvi  
10 put dokazan u našoj studiji, su povećane koncentracije AOPP, kako u krvnoj  
11 plazmi, tako i u mlečnom serumu.  
12  
13 12. Kao posledica stafilokokne infekcije vimena i odgovora organizma na inflamaciju  
14 dolazi do povećane aktivnosti H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-zavisnih peroksidaza, MPO i LPO. Mijeloperoksidazna  
15 aktivnost u krvnom i mlečnom serumu, zavisi od broja *S. aureus*, i u krvnom serumu krava sa brojem  
16 *S. aureus* ≥ 1000 CFU/mL je povećana 3,03 puta, dok je u mlečnom serumu aktivnost povećana 2,13 puta.  
17 Razlika u povećanju aktivnosti MPO u krvnom i mlečnom serumu u grupi krava sa  
18 brojem *S. aureus* ≥ 1000 CFU/mL, posledica je prisustva SPIN proteina koga luči  
19 *S. aureus* u mleku koji je odgovoran za inhibiciju MPO. Laktoperoksidazna  
20 aktivnost prati povećanje aktivnosti MPO, i u mlečnom serumu grupe krava sa  
21 brojem *S. aureus* ≥ 1000 CFU/mL dokazano je povećanje od 2,32 puta. Jaka  
22 korelaciona analiza potvrđuje sličnost u strukturi i funkciji ova dva enzima, i  
23 njihovoj mogućoj primeni kao ranih markera u otkrivanju SCM.  
24  
25 13. Povećanje ukupne aktivnosti LDH u mlečnom serumu grupe krava sa brojem *S.*  
26 *aureus* < 1000 CFU/mL od 29,22% i od 45% grupe krava sa brojem *S. aureus* ≥  
27 1000 CFU/mL ukazuje na veći stepen oštećenja mlečne žlezde pri većem broju  
28 *S. aureus*, bez većeg uticaja na ukupnu aktivnost ovog enzima u krvnom serumu.  
29 Povećana relativna izoenzimaska aktivnost LDH5 u krvnom serumu krava sa  
30 supkliničkim mastitisom ukazuje na oštećenje hepatocita i zavisi od broja *S.*  
31 *aureus*. Ukupna aktivnost LDH u mleku je dobar marker inflamacije mlečne  
32 žlezde.  
33  
34

35 Merenje predloženih biomarkera oksidativnog stresa kod mlečnih krava pomoglo bi u ranijem  
36 otkrivanju supkliničkih mastitisa i pojavu inflamacije, pre vidljivih znakova bolesti, kao i primeni  
37 adekvatne terapije u ranoj fazi supkliničkog mastitisa. Dalja ispitivanja u rasvetljavanju  
38 patofiziološkog mehanizma oštećenja tkiva mlečne žlezde kod SCM su neophodna.  
39  
40  
41

#### 42 **VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA (navesti da li** 43 **su dobijeni rezultati u skladu sa postavnjenim ciljem i zadacima istraživanja, kao i da li** 44 **zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):** 45

46 Prikaz i tumačenje rezultata istraživanja su u skladu sa postavljenim ciljevima doktorske  
47 disertacije. Dobijene rezultate kandidat je prikazao tabelarno i grafikonima. Opisi i tumačenje  
48 rezultata su jasni, detaljni i sveobuhvatni, u skladu sa najnovijim naučnim saznanjima.  
49 Izvedeni zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata, logični su i jasno formulisani.  
50  
51

#### 52 **VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:** 53

- 54 1. **Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi**  
55 **teme?**  
56

57 Rezultati istraživanja sprovedenih u okviru doktorske disertacije kandidata Svetlane  
58 Nedić su u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja, a zaključci su  
59 pravilno izvedeni i proizilaze iz dobijenih rezultata.  
60

1 2. **Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku**  
2 **disertaciju?**

3  
4 Doktorska disertacija Svetlane Nedić sadrži sve bitne elemente i predstavlja originalni  
5 naučni rad čija je tema aktuelna i naučno opravdana.

6  
7 3. **Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?**

8  
9 Doktorska disertacija doktoranda Svetlane Nedić predstavlja sveobuhvatno,  
10 originalno ispitivanje supkliničkog mastitisa izazvanog *S. aureus*. Prema nama  
11 dostupnoj literaturi prvi put je analizirana aktivnost paraoksonaze 1 u mleku krava i  
12 dokazana njena povezanost sa brojem somatskih ćelija u mleku, te utvrđena uloga  
13 oksidativnog i nitrozativnog stresa u patogenezi supkliničkih mastitisa izazvanih *S.*  
14 *aureus*, i. Dokazano je postojanje statistički značajnog oštećenja lipida i proteina,  
15 usled smanjenog ukupnog antioksidativnog kapaciteta izazvanog prisustvom  
16 uzročnika supkliničkog mastitisa. Po prvi put je dokazana povezanost supkliničkih  
17 mastitisa i koncentracije uznapredovalih proizvoda oksidacije proteina. Svi ovi  
18 rezultati su od velikog značaja u otkrivanju supkliničkih mastitisa za veterinarsku  
19 medicinu i industriju mleka. Merenjem predloženih biomarkera oksidativnog stresa  
20 kod mlečnih krava pomoglo bi u ranijem otkrivanju supkliničkih mastitisa i pojavi  
21 inflamacije, kao i primeni adekvatne terapije u ranoj fazi supkliničkog mastitisa.  
22 Originalnost dobijenih rezultata utvrđen je objavljivanjem jednog rada iz kategorije  
23 M21.

24  
25  
26 4. **Da li je mentor tokom provere originalnosti disertacije utvrdio neopravdano**  
27 **preklapanje teksta sa drugim publikacijama (odgovoriti sa da ili ne):**

28  
29 **NE.** Utvrđen je indeks preklapanja od 18%.

30  
31 **IX SPISAK NAUČNIH RADOVA SADRŽINSKI POVEZANIH SA DOKTORSKOM**  
32 **DISERTACIJOM U KOJIMA JE DOKTORAND PRVI AUTOR ODNOSNO AUTOR SA**  
33 **NAJVEĆIM DOPRINOSOM (napisati imena svih autora, godinu objavljivanja, naslov**  
34 **rada, naziv časopisa, impakt faktor i klasifikaciju prema Pravilniku o postupku, načinu**  
35 **vrednovanja, i kvantitativnom iskazivanju naučnoistraživačkih rezultata istraživača):**  
36

- 37 1. Nedić Svetlana, Vakanjac Slobodanka, Samardžija Marko, Borozan Sunčica.  
38 (2019). Paraoksonase 1 in bovine milk and blood as marker of subclinical mastitis  
39 caused by *Staphylococcus aureus*. Research in Veterinary Science. 125, 323-332.  
40 Vrhunski međunarodni časopis – M21, IF<sub>2019</sub> – 1,892, petogodišnji IF – 1,816.

41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60 **X PREDLOG:**

1  
2 **Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri**  
3 **ponuđenih mogućnosti):**

4 - da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana  
5

6  
7 DATUM

8  
9 05.11.2020

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

10  
11 1. Dr Slobodanka Vakanjac, redovni profesor,  
12 Fakultet veterinarske medicine  
13 Univerziteta u Beogradu

14  
15 \_\_\_\_\_

16  
17 2. Dr Slavoljub Jović, vanredni profesor,  
18 Fakultet veterinarske medicine  
19 Univerziteta u Beogradu

20  
21 \_\_\_\_\_

22  
23 3. Dr Sunčica Borozan, redovni profesor  
24 Fakultet veterinarske medicine  
25 Univerziteta u Beogradu

26  
27 \_\_\_\_\_

28  
29 4. Dr Vera Katić, redovni profesor u penziji  
30 Fakultet veterinarske medicine  
31 Univerziteta u Beogradu

32  
33 \_\_\_\_\_

34  
35 5. Dr Marko Samardžija, redovni profesor u  
36 trajnom zvanju  
37 Fakultet veterinarske medicine  
38 Univerzitet u Zagrebu

39  
40 \_\_\_\_\_  
41  
42  
43  
44  
45