

## НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На I редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 12.10.2018. године, прихваћен је извештај ментора др Дренке Тривановић и др Диане Бугарски о урађеној докторској дисертацији **Тамаре М. Кукољ**, истраживача сарадника Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду, под насловом „**Утицај LPS и IL-33 на адултне матичне ћелије ткива периодонцијума: функцијске промене и активирани молекулски механизми**“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Дренка Тривановић, научни сарадник, Универзитет у Београду-Институт за медицинска истраживања, др Диана Бугарски, научни саветник, Универзитет у Београду-Институт за медицинска истраживања и др Александра Кораћ, редовни професор, Универзитет у Београду-Биолошки факултет. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију и Већу подноси следећи

### ИЗВЕШТАЈ

#### **Општи подаци о докторској дисертацији:**

Докторска дисертација **Тамаре М. Кукољ**, под насловом „**Утицај LPS и IL-33 на адултне матичне ћелије ткива периодонцијума: функцијске промене и активирани молекулски механизми**“, урађена је у Институту за медицинска истраживања у Београду у оквиру пројекта под бројем ОИ 175062 “Регенеративни и модулаторни потенцијал адултних матичних ћелија” финансираног од стране Министарства за просвету, науку и технолошки развој Републике Србије.

Докторска дисертација је написана на 220 страна куцаног текста и подељена је у седам поглавља: Увод (53 стране), Циљеви истраживања (4 стране), Материјал и методи (24 страна), Резултати (50 страна), Дискусија (28 страна), Закључци (3 стране) и Литература (38 страна). Дисертација садржи: 4 табеле и 41 слику.

У дисертацији је цитирано 550 библиографских јединица. Докторска дисертација садржи и податке о менторима и члану комисије, сажетак на српском и енглеском језику, садржај, биографију аутора и потписане изјаве.

#### **Анализа докторске дисертације:**

У поглављу **УВОД**, кандидаткиња је у оквиру три целине дала детаљан приказ података из литературе који се односе на проблематику докторске дисертације, у складу са циљем и постављеним задацима. Дат је преглед литературних података о карактеристикама матичних ћелија, са посебним освртом на адултне матичне ћелије. Детаљно је описана проблематика идентификације и карактеризације, односно дефинисања својстава мезенхимских матичних ћелија (ММЋ), посебно су истакнуте карактеристике популације ММЋ оралног ткива, пре свега ММЋ ткива периодонцијума (ПД-ММЋ).

Наредно потпоглавље односи се на механизме регулације функцијског одговора ММЋ, а који укључују механизме регулације пролиферације и самообнављања, диференцијације, као и

механизме регулације имунског статуса ММЋ, при чему су истакнути и механизми који могу бити од значаја у регулацији ових процеса код ПД-ММЋ.

У трећој целини описана је проблематика развоја инфламације потпорног ткива зуба. Дат је опис микросредине усне дупље, као и узрочника инфламаторних обољења усне дупље. Посебно је описана улога LPS као значајног активатора имунског система домаћина, као и биолошка активност IL-33 у различитим физиолошким и патолошким стањима, са нагласком на његову до сада показану улогу у оралном ткиву.

У поглављу **ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА** кандидаткиња поставља следеће циљеве истраживања: испитивање утицаја LPS на својства и функције ПД-ММЋ повезаних са регенеративним потенцијалом; испитивање утицаја LPS на својства и функције ПД-ММЋ повезаних са имуномодулаторним потенцијалом; испитивање утицаја IL-33 на својства и функције ПД-ММЋ повезаних са регенеративним потенцијалом.

У поглављу **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ** дати су подаци о коришћеном биолошком материјалу и реагенсима. Представљен је експериментални дизајн како би се објаснила поставка експерименталних задатака. Описани су методи изолације ћелијских популација коришћених у раду, као и примењене методе за анализу функцијских својстава ћелија укључујући метаболичку активност, имунофенотипизацију, пролиферацију, диференцијацију, миграцију, старење и клоногеност. Поред тога, детаљно су описани методи детекције експресије протеина и гена. На крају, кандидаткиња представља и статистичке методе (*Student*-ов t-тест; GraphPad Prism програм) коришћене при обради добијених резултата.

Поглавље **РЕЗУЛТАТИ** организовано је у оквиру 3 целине, а у складу са постављеним циљевима. У првом поглављу су представљени резултати који се односе на испитивање утицаја LPS на својства и функције ПД-ММЋ повезаних са регенеративним потенцијалом. Добијени резултати показују да LPS не утиче на вијабилност и имунофенотипска својства ПД-ММЋ, али да може бити значајан модулатор диференцијационог потенцијала ових ћелија. Такође, утврђено је да LPS активира ERK1,2 сигнални пут MAPK сигнализације, као и да може бити у основи показаних промена код ПД-ММЋ.

У наставку, представљени су резултати који се односе на испитивање утицаја LPS на својства и функције ПД-ММЋ повезаних са имуномодулаторним потенцијалом. Приказани су резултати модулације одговора мононуклеарних и полиморфонуклеарних ћелија изолованих из периферне крви, након кокултивације са ПД-ММЋ претретираних са LPS. У оквиру ових резултата истакнуто је да LPS може значајно утицати на имунски статус ПД-ММЋ, односно њихову способност да модулишу функцијски одговор имунских ћелија. На молекулском нивоу, LPS код ПД-ММЋ може утицати на експресију молекула значајних за имуномодулацију, док све ове промене могу бити посредоване ERK1,2 сигналним путем.

У последњој целини приказани су резултати испитивања утицаја IL-33 на својства и функције ПД-ММЋ повезаних са регенеративним потенцијалом. Добијени резултати недвосмислено показују да IL-33 не утиче на имунофенотипска својства и метаболичку активност ПД-ММЋ, али да подстиче матичност ових ћелија. Такође, показано је да иако током третмана овај цитокин инхибира остеогену диференцијацију, не мења диференцијациони потенцијал ових ћелија. На молекулском нивоу, показано је да у основи показаних промена може бити активност NF- $\kappa$ B и  $\beta$ -катенин сигналних путева.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** кандидаткиња критички разматра приказане резултате поређећи их са подацима других аутора. Дискусија је организована у складу са представљеним резултатима и даје одговоре на питања постављена у циљевима. У првом делу су дискутовани резултати који се односе на показане ефекте LPS на функцијска својства ПД-ММЋ повезана са њиховим регенеративним потенцијалом. Потом, кандидат прелази на дискутовање модулације имунског статуса ПД-ММЋ у условима инфламаторне микросредине, а са посебним освртом на до сада показан утицај LPS. С обзиром на показан утицај LPS на генску експресију *ST2* и *IL-33* гена, у даљем тексту су дискутовани резултати који се односе на утицај IL-33 на регенеративна својства ПД-ММЋ.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** кандидаткиња на јасан начин изводи закључке који у потпуности произлазе из добијених резултата, а одговарају на постављене циљеве ове докторске дисертације. Са једне стране изведени су закључци који се односе на утицај LPS на регенеративна и имуномодулаторна својства ПД-ММЋ, као и молекулске механизме који могу бити у основи показаних функцијских промена ових ћелија, пре свега активација ERK1,2 сигналног пута MAPK сигнализације. Са друге стране, представљени су закључци који се односе на утицај IL-33 на регенеративна својства ПД-ММЋ, као и NF- $\kappa$ B и  $\beta$ -катенин као сигналне путеве који учествују у активности IL-33. Као главни закључак кандидаткиња поставља значај разумевања утицаја инфламаторне микросредине на функцијска својства ПД-ММЋ у светлу значаја разумевању понашања ових ћелија као неопходног предуслова за њихову потенцијалну терапијску примену.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи списак 550 цитираних библиографских јединица. Литературни извори су адекватно и на одговарајућим местима цитирани у тексту докторске дисертације.

#### **Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:**

##### **Б1. Радови у часописима међународног значаја**

1. **Kukolj T**, Trivanović D, Mojsilović S, Okić Djordjević I, Obradović H, Krstić J, Jauković A, Bugarski, D. IL-33 guides osteogenesis and increases proliferation and pluripotency marker expression in dental stem cells. *Cell Proliferat* Accepted 28.8.2018. DOI: 10.1111/cpr.12533 (**M21**)
2. **Kukolj T**, Trivanović D, Okić Djordjević I, Mojsilović S, Krstić J, Obradović H, Jankovic S, Santibañez J, Jauković A, Bugarski, D. Lipopolysaccharide can modify differentiation and immunomodulatory potential of periodontal ligament stem cells via ERK1,2 signaling. *J Cell Physiol* 2018 233(1):447-462. doi: 10.1002/jcp.25904 (**M21**)  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcp.25904>

##### **Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја**

1. **Кукoљ Т**, Тривановић Д, Јауковић А, Окић Ђорђевић И, Крстић Ј, Мојсиловић С, Обрадовић Х, Јанковић С, Сантибањез ХФ, Бугарски Д. Матичне ћелије периодонцијума: утицај LPS на имуномодулаторни потенцијал посредством активираниог ERK1,2 сигналног пута. VII научни састанак Друштва имунолога Србије, Београд, Србија, 27-28 април 2016., Књига апстраката стр. 34.

## **Мишљење и предлог Комисије:**

Докторска дисертација **Тамаре М. Кукољ**, под насловом „Утицај LPS и IL-33 на адултне матичне ћелије ткива периодонцијума: функцијске промене и активирани молекулски механизми“, представља студију из области матичних ћелија, једне од најсавременијих области ћелијске биологије. С обзиром на актуелно поље истраживања, ова дисертација на концизан и јасан начин пружа увид у најновија сазнања из области, а резултатима и произашлим закључцима отвара питања од значаја за клиничку примену.

Комисија је мишљења да докторске дисертације **Тамаре М. Кукољ**, својом темом, постављеним циљевима, методолошким приступом, добијеним резултатима и њиховим тумачењем представља оригинални истраживачки допринос разумевању функцијских својстава ПД-ММЋ у условима инфламаторне микросредине. Ови резултати несумњиво пружају основу за даља истраживања ових ћелија, при чему кандидат критички истиче проблематику потенцијалне примене ПД-ММЋ као главног циља изучавања матичних ћелија.

Имајући у виду све напред наведеног, као и да су резултати истраживања у оквиру ове докторске дисертације објављени у врхунским међународним часописима М21 категорије, Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри **Тамари М. Кукољ** јавну одбрану докторске дисертације под насловом „Утицај LPS и IL-33 на адултне матичне ћелије ткива периодонцијума: функцијске промене и активирани молекулски механизми“.

## **КОМИСИЈА:**

---

Др Дренка Тривановић, научни сарадник,  
Универзитет у Београду-  
Институт за медицинска истраживања,

---

Др Диана Бугарски, научни саветник,  
Универзитет у Београду-  
Институт за медицинска истраживања,

---

Др Александра Кораћ, редовни професор,  
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

У Београду, 15.10.2018. године.