

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА  
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На III редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 14.12.2018. године, прихваћен је извештај ментора др Весне Спасовски и др Соње Павловић, о урађеној докторској дисертацији Мише М. Вреће истраживача сарадника на Институту за молекуларну генетику и генетичко инжењерство у Београду, под насловом: **“Експресије гена маркера инфламације и фиброзе и гена кандидата за оптимизовану хелијску терапију код пацијената са системском склерозом”** и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Весна Спасовски, научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, ментор; др Соња Павловић, научни саветник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, ментор; др Горан Брајушковић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, члан; др Светлана Радовић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, члан; др Немања Дамјанов, редовни професор, Медицински факултет, Универзитет у Београду, члан. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ**

Докторска дисертација Мише Вреће **“Експресије гена маркера инфламације и фиброзе и гена кандидата за оптимизовану хелијску терапију код пацијената са системском склерозом”** представља оригинално истраживање које за тему има проучавање молекуларних маркера који су укључени у процесе инфламације и фиброзе као кључних процеса у системској склерози, као и генетичких фактора који учествују у артритису, као једној од клиничких манифестација овог обољења.

Ова докторска дисертација је урађена у Лабораторији за молекуларну биомедицину Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, у оквиру пројекта “Ретке болести: молекуларна патофизиологија, дијагностички и терапијски модалитети и социјални, етички и правни аспекти (ИИИ 41004)”.

Докторска дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику, Податке о менторима и члановима комисије, Резиме на српском и енглеском језику са кључним речима, Садржај, Текст по поглављима, Списак литературе, Биографију аутора и Прилоге. Докторска дисертација написана је на 150 страница, садржи 27 слика и 9 табела. Дисертација је подељена на 7 поглавља: **Увод** (1-24 стране), **Циљ рада** (25-27 стране), **Материјал и методе** (28-58 стране), **Резултати** (59-88 стране), **Дискусија** (89-113 стране), **Закључци** (114-118 стране) и **Списак литературе** (119-150 стране). У прилозима се налазе: Биографија аутора, Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјава о коришћењу.

## 2. АНАЛИЗА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

**Увод** ове докторске дисертације је састављен из четири поглавља.

У првом поглављу је дата дефиниција системске склерозе и наведени су основни епидемиолошки и популациони параметри ове болести. Описане су главне клиничке карактеристике болести, захваћеност одрђених органа, и описане главни проблеми који постоје у дијагностичкој процедури и клиничкој стратификацији пацијената. Такође, наведено је шта је до сада познато о улози генетичких чинилаца у патогенези ове комплексне болести.

У другом поглављу је описана улога инфламације у системској склерози и дате основне особине и улоге сигналних путева JAK2/STAT3 и NF-κB у патогенези СС. Дато је објашњење улоге гена *IL6*, *JAK2*, *STAT3*, *TLR7*, *TLR9*, *IRAK1* и *miRNK-146a* у инфламацији и представљена досадашња сазнања о улози ових фактора у АБ болестима. Такође, истакнуте су смернице тренда садашњих истраживања у овом погледу. Додатно, описан је значај тачкастих варијанти у генима *IRAK1* и *miRNK-146a* у различитим АБ и описана њихова улога у СС.

Треће поглавље је посвећено процесу фиброзе као основне патолошке промене у СС. Дат је опис улоге процеса фиброзе у настанку и клиничким симптомима ове болести, која је у основи болест везивног ткива. Објашњена је улога фибробласта и миофибробласта у нормалном и патолошком одговору на продужену изложеност цитокинима, хемокинима, факторима раста и ангиогенх фактора произведених од стране ендотелијалних, епителијалних и регрутованих инфламаторних ћелија, који су исходни процеси у патогенези СС. Наведени су унутрашњи органи и њихове најчешће дисфункције услед фиброзних процеса у СС.

У четвртом поглављу је акценат дат на нове терапијске приступе у лечењу СС. Наглашено је да се поремећаји у коштаном-мишићном систему испољавају код више од половине пацијената и да

захваћеност зглобова често смањује радну способност и отежава свакодневне активности особа оболелих од СС. Истакнуто је да је терапија матичним ћелијама у лечењу дегенеративних промена зглобова већ ушла у фазу клиничких испитивања, упркос чињенице да постоје непознанице како о њиховом дејству, тако и о томе како њихова дуготрајна пропација у ћелијској култури утиче на њихову способност самообнављања и потенцијал за регенерацију хрскавице, што је од значаја у терапији малих зглобова пацијената оболелих од СС.

У поглављу **Циљеви рада** дефинисани су главни научни циљеви докторске дисертације. Они су подељени у две групе циљева. У првој групи циљева дефинисани су циљеви везани за проналажење нових биомаркера, који би омогућили боље разумевање патогенезе системске склерозе, допринели ранијем успостављању дијагнозе и бољој класификацији пацијената. Истраживања везана за овај циљ су обухватила:

Анализу експресионих профила гена *IL6*, *JAK2*, *STAT3*, *TLR7*, *TLR9* и *miRNK-146a*, као компоненти сигналних путева укључених у процесе инфламације, у моноклеарним ћелијама периферне крви СС пацијената, у циљу детекције нових биомаркера болести на системском нивоу.

Испитавање асоцијације варијанти *miRNK-146a* rs2910164 и *IRAK1* rs3027898 rs3027898 са предиспозицијом за настанак и прогресију СС.

Анализа релативне експресија одабраних гена *JAK2*, *TLR7*, *TLR9*, *IRAK1* и *miRNK-146a* као компоненти сигналних путева укључених у процес фиброзе, у узорцима биопсија коже, у циљу проналажења нових биомаркера болести на локалном нивоу.

У другој групи циљева дефинисани су циљеви везани за унапређење ефикасности ћелијске терапије као новог терапијског приступа лечењу малих зглобова пацијената са СС, проучаван је утицај продужене *ex vivo* култивације аММЋ на њихову способност самообнове и потенцијала за диференцијацију у хондроците. Истраживања повезана са овим циљем су обухватила:

Испитивање утицаја дуготрајне пропације аММЋ у *in vitro* условима на њихову потентност и потенцијал за регенерацију хрскавице, кроз анализу релативних експресија гена *OCT4* и *NANOG*,

одговорних за супримирање њихове диференцијације, одржавање њихове плурипотентности и недиференцираног стања матичности.

Испитивање утицаја дуготрајне пропагације аММТ у ин витро условима на њихову способност за хондрогену диференцијацију, кроз анализу експресије гена *SOX5*, *SOX6*, *SOX9* и *COL1A1*, укључених у најраније фазе хондрогене диференцијације, у раном и касном пасажу.

У оквиру поглавља **Материјал и методе** описане су савремене методе молекуларне генетике коришћене у реализацији наведених циљева. У потпоглављу Испитаници описан је биолошки материјал коришћен у овом раду: 102 пацијента оболелих системске склерозе и 66 здравих индивидуа, као и биолошки материјал 4 пацијента оболела од артритиса. Наведена су одобрења етичких комитета који су одобрили студију: одобрења Етичког одбора Клиничког центра Србије и Етичког комитета Института за ортопедске ортопедске-хируршке болести "Бањица".

Сви прајмери, пробе и антитела коришћени у изради ове дисертације, наведени су у оквиру овог поглавља.

Описане су методе за изолацију ДНК из периферне крви, изолацију моноклеарних ћелија из периферне крви и изолацију РНК из моноклеарних ћелија и биопсија коже. Дат је опис метода оришћених за детекцију генетичких варијанти у генима за *IRAK1* и *miRNK-146a*, као што су *PCR* анализа и анализа ДНК на агарозном гелу, секвенцирање *PCR* продуката. У посебном делу је детаљно описана метода коришћена за праћење експресије гена, „*real-time*“ *PCR* (RT-qPCR) метода. Приказане су основне технике квантификације (апсолутна и релативна квантификација) као и основе *SYBR Green* и *TaqMan* хемије. У посебним поглављима је описано одређивање експресије *IL6*, *STAT3*, *TLR7*, *TLR9*, *OCT4*, *NANOG*, *SOX5*, *SOX6*, *SOX9* и *COL1A1* гена коришћењем *SYBR Green* хемије, као и одређивање експресије *JAK2* и *IRAK1* гена коришћењем *TaqMan* хемије. Такође, описана је метода квантификације гена за *miRNK-146a* у двостепеној RT-qPCR реакцији, састављеној од реакције реверзне транскрипције коришћењем прајмера са петљом ("stem-loop") и *PCR* амплификације.

У овом поглављу су описани протоколи коришћени за изолацију и *in vitro* пропагацију мезенхимских матичних ћелија пореклом из адипозног ткива, као и методе за фенотипску карактеризацију аММТ. Дат је опис методе за детекцију површинских маркера аММТ проточном цитофлуориметријом, као и методе за остеогену и хондрогену диференцијацију аММТ.

У посебном делу су наведене статистичке методе коришћене за обраду добијених резултата.

У поглављу **Резултати**, приказане су слике и табеле које уз одговарајуће коментаре и објашњења описују резултате добијене у оквиру истраживања. Резултати су подељени у пет поглавља.

У првом поглављу је описана квантификација експресије гена укључених у процес инфламације код СС пацијената. Применом методе RT-qPCR извршена је релативна квантификација *IL6*, *JAK2*, *STAT3*, *TLR7*, *TLR9*, *IRAK1* и *miRNK-146a* гена у мононуклераним ћелијама периферне крви 50 СС пацијената и 13 контролних испитаника. Релативна квантификација гена *TLR7* показала је да повишена експресија овог гена код оболелих у односу на контроне испитанике представља неповољан прогностички фактор, али истовремено и маркер који би омогућио бољу стратификацију пацијената. Детектовани снижен експресиони ниво гена *TLR9* код СС пацијената представљао би потенцијално неповољан прогностички фактор за СС. Експресија гена *IRAK1* код СС пацијената била је нижа у односу на контролну групу и показано је да представља неповољан прогностички фактор, услед асоцираности са тежом клиничком сликом у погледу захваћености коже фибротичним променама и присуством АТА код СС пацијената. Поред тога што може представљати потенцијално нови биомаркер за СС, измењена експресија овог гена омогућава и бољу класификацију пацијената. Експресиони нивои гена *IRAK1* и *miRNK-146a* показују супротан тренд код особа мушког и женског пола, као и код пацијената са различитим интензитетом фибротичних промена на кожи, указујући да ова полно зависна експресија потенцијално може бити укључена у механизам преобладавања СС код особа женског пола. Урађене корелационе анализе гена на системском нивоу указале су на две јаке негативне корелације *JAK2* и *IRAK1* транскрипата са *miRNK-146a*, као и да је експресија *IRAK1* гена значајно регулисана овом *miRNK*. Ови резултати указују на то да су измењена експресија анализираних гена и њихове нарушене међусобне интеракције укључене у механизам настанка и одржавања процеса инфламације на системском нивоу у СС.

Испитивање утицаја генетичких варијанти у генима *IRAK1* и *miRNK-146a* на ризик за настанак и прогресију СС приказана је у другом одељку. Студија асоцијације варијанте *IRAK1* rs3027898 са СС код пацијената женског пола није показала значајну асоцијацију са ризиком за развој и прогресију СС. Слично томе, студија асоцијације варијанте *miRNK-146a* rs2910164 са ризиком од СС, указала је да ова варијанта није фактор предиспозиције за СС, али је фактор ризика за развој активног облика болести и фиброзе плућа код СС пацијената. Наиме, утврђено је да носиоци СС генотипа имају 10 пута већу шансу за развој плућне фиброзе и активног облика болести у односу на носиоце СС и GG генотипа.

У трећем поглављу приказани су резултати прелиминарне анализа експресије *JAK2*, *TLR7*, *TLR9*, *IRAK1* и *miRNK-146a* гена у процесу фиброзе код СС пацијената. Показано је да постоји снажан тренд ка редукцији експресије свих испитиваних гена у групи узорака ткива коже са фибротичним

променама у односу на ткиво без промена. Овакви резултати указују на то да је измењена експресија одабраних гена укључена у настанак фиброзе, највероватније кроз исту сигналну каскаду која је укључена у процес зарастања рана. анализираних

У четвртом поглављу ове секције приказани су резултати фенотипске карактеризације ММЋ изолованих из масног ткива четири пацијента са остеоартритисом. Утврђено је да су изоловане ћелије облика сличног фибробластима, са способношћу адхезије за зидове суда. Имунофенотипизација је показала присуство површинских маркера карактеристичних за овај ћелијски тип CD70, CD93 и CD105 као и врло ниску експресију леукоцитног CD45 и хематопотског маркера CD34. Додатно, применом адекватних индуцера ћелије су успешно диференциране у остеобласте и хондроците, чиме је утврђен њихов фенотипски профил.

Резултати утврђивања експресионих профила гена матичности и гена укључених у хондрогенезу током дуготрајне *ex vivo* пропагације аММЋ приказано је у петом одељку. Мерењем експресије гена маркера матичности, *OCT4* и *NANOG* у раном и касном пасажу аММЋ показано је да се потентност аММЋ мења са дужином гајења индивидуално, код сваког пацијента специфично. Анализа експресије гена кључних за рану фазу хондрогенезе *SOX9*, *SOX5*, *SOX6* и *COL1A1* јасно је показала да потенцијал матичних ћелија остаје очуван и у касним пасажима. Упоредна анализа нивоа иРНК код различитих пацијената показала је да су експресиони нивои гена *SOX5*, *SOX6* и *COL1A1* потенцијални прогностички маркери ефикасности хондрогене диференцијације, јер имају јасан тренд повећања експресије током продужене култивације ћелија.

У поглављу **Дискусија**, добијени резултати су критички дискутовани у светлу најновијих податка из литературе везаних за молекуларну основу системске склерозе. Изнета су оригинална разматрања поткрепљена постојећим подацима и најновијим експерименталним доказима. Дискусија је подељена на пет целина.

У првом делу дискутована је улога цитокина и фактора раста у различитим аутоимуним и другим болестима. Разматрана је улога сигналног пута JAK2/STAT3 у СС и значај анализе експресионог профила гена *IL6*, *JAK2* и *STAT3* на системском нивоу. Упоредени су резултати добијени у овом раду са литературним подацима.

У другом делу у светлу добијених резултата дискутована је улога сигналног пута NF-κB у СС и значај анализе експресионог профила гена *TLR7*, *TLR9*, *IRAK1* и *miRNC-146a* на системском нивоу. Указано је на значај микроРНК као чинилаца генске регулације у нормалној хомеостази, а такође и улогу коју њихова измењена експресија има у различитим патолошким стањима. Пажња је

посвећена могућој имплементацији молекуларних маркера из ове дисертације који су се показали као интересантни у клиничку праксу у смислу боље и прецизније стратификације пацијената.

Студија асоцијације генетичких варијанти у генима *IRAK1* и *miRNK-146a* са ризиком за настанак и прогресију СС је дискутована у трећем поглављу. Овде је дат преглед досадашњих сазнања о варијантам проучаваним у овом раду, о механизмима њиховог утицаја на настанак болести и њиховом значају за експресију гена у којима се налазе.

Четврти део био је посвећен дискусији резултата добијених анализом експресионих профила гена *JAK2*, *TLR7*, *TLR9*, *IRAK1* и *miRNK-146a* у ткиву коже захваћеном фиброзним променама. Додатно су објашњени механизми индукције фибротичких промена у условима продужене изложености цитокинима и факторима раста, каква се управо среће код системске склерозе.

Пети део ове секције обрадио је аспекте новог терапијског приступа у лечењу артритиса малих зглобова код пацијената са СС. Симптоматско лечење ћелијском терапијом је у фази клиничких студија, а нова сазнања о биологији матичних ћелија су кључна за примену ове савремен терапије. Дискутовани су резултати добијени праћењем експресије гена матичности *OCT4* и *NANOG* и раних гена укључених у хондогену диференцијацију *SOX5*, *SOX6*, *SOX9* и *COL1A1*.

У поглављу **Закључци**, на јасан начин је изнето више закључака који у потпуности произилазе из добијених резултата. У складу са приказаним резултатима, закључци су подељени у четири целине:

1. Закључци добијени анализом експресионих профила изабраних гена на системском нивоу код пацијената са системском склерозом (СС):

Закључено је да добијена повишена експресија гена *IL6* детектована код СС пацијената се може сматрати потенцијалним маркером за бољу стратификацију оболелих, услед асоцираности са касним обликом ове болести.

Установљена снижена експресија гена *JAK2* може представљати потенцијално неповољан прогностички фактор за СС, нарочито код пацијената мушког пола.

Није потврђена веза између експресије гена *STAT3* и предиспозиције за развој СС.

Релативна квантификација гена *TLR7* показала је да повишена експресија овог гена код оболелих представља неповољан прогностички фактор, али истовремено и маркер који би омогућио бољу стратификацију пацијената, јер је повећана експресија овог гена асоцирана са

повећаним ризиком од појаве активне и касне форме болести, као и дигиталних улцера у групи СС пацијената.

Детектовани снижен експресиони ниво гена *TLR9* код СС пацијената, представљао би потенцијално неповољан прогностички фактор за СС.

Резултати експресионих анализа указали су да снижени експресиони ниво гена *IRAK1* представља неповољан прогностички фактор, услед асоцираности са тежом клиничком сликом у погледу захваћености коже фибротичним променама и присуством АТА код СС пацијената. Поред тога што може представљати потенцијално нови биомаркер за СС, измењена експресија овог гена омогућава и бољу класификацију пацијената. Такође експресија гена *IRAK1* код СС пацијената мушког пола била је нижа у односу на пацијенте женског пола, указујући да ова полно зависна експресија потенцијално може бити укључена у механизам предоминантног испољавања СС код особа женског пола.

Снижени експресиони ниво *miRNC-146a* може се сматрати потенцијално неповољним прогностичким фактором за СС, нарочито за пацијенте женског пола. Такође, мерењем експресије ове *miRNC* може се омогућити боља стратификација пацијената, јер је снижени експресиони ниво био асоциран са СС пацијентима које је карактерисала умерена захваћеност коже фибротичним променама.

Корелационе анализе гена на системском нивоу указале су да поред неких очуваних интеракција, као што је позитиван однос између *JAK2* и *IRAK1* транскрипта, постоје и измењене интеракције између транскрипата анализираних гена у групи СС пацијената. На првом месту, то се односи на појаву две јаке негативне корелације *JAK2* и *IRAK1* транскрипта са *miRNC-146a* које нису постојале у контролној групи узорака. Штавише, корелациона анализа нивоа експресије гена *IRAK1* и *miRNC-146a* у групи пацијената оболелих од СС указала је да је заступљеност *IRAK1* иРНК значајно регулисана овом *miRNC*. Ови резултати указују на то да су измењена експресија анализираних гена и њихове нарушене међусобне интеракције укључене у механизам настанка и одржавања процеса инфламације на системском нивоу у СС.

2. На основу добијених резултата асоцијативне студије одабраних генетичких варијанти са СС изведени су следећи закључци:



Студија асоцијације варијанте IRAK1 rs3027898 са СС код пацијената женског пола није показала значајну асоцијацију са ризиком за развој и прогресију СС.

Студија асоцијације варијанте miRNK-146a rs2910164 са ризиком од СС указала је да ова варијанта није фактор предиспозиције за СС, али је фактор ризика за развој активног облика болести и фиброзе плућа код СС пацијената.

3. На основу добијених резултата експресионих анализа изабраних гена код пацијената са СС на локалном нивоу могуће је извести следеће закључке:

Прелиминарна анализа релативних експресија гена *JAK2*, *TLR7*, *TLR9*, *IRAK1* и miRNK-146a у узорцима биопсије коже СС пацијената показала је снажан тренд ка редукцији експресије свих испитиваних гена у групи узорака ткива коже са фибротичним променама у односу на оне без промена. Овакви резултати указују на то да је измењена експресија одабраних гена укључена у настанак фиброзе, највероватније кроз исту сигналну каскаду која је укључена у процес зарастања рана.

Прелиминарна анализа корелације парова транскрипата анализираних гена, указала је на могуће измењене интеракције између транскрипата у узорцима ткива коже са фибротичним променама у односу на ткиво коже без промена. Овакви прелиминарни резултати имплицирају да би измењена експресија анализираних гена и њихове измењене међусобне интеракције на локалном нивоу могле доприносити процесу настанка и одржавања фиброзе.

4. На основу добијених резултата фенотипске карактеризације мезенхимских матичних ћелија пореклом из адипозног ткива (аММЋ) и анализе утицаја дужине гајења аММЋ у култури на њихову потентност и способност хондрогене диференцијације, изведени су следећи закључци:

Морфолошком и фенотипском карактеризацијом ММЋ пореклом из масног ткива пацијената, уочене су ћелије облика сличног фибробластима, са способношћу адхезије за зидове суда, и доказан је мултипотентни потенцијал ових ћелија, њиховом *in vitro* диференцијацијом у хондроците и остеобласте. Имунофенотипизација је показала присуство специфичних мезенхимских, а одсуство леукоцитних и хематопоетских површинских маркера, чиме су задовољени сви критеријуми за потвду фенотипа ових ћелија.

Мерењем експресије гена маркера матичности, *OCT4* и *NANOG*, у раном и касном пасажу аММЋ током њихове *in vitro* пропагације у култури, добијене су информације да се потентност

aMMТ мења са дужином гајења индивидуално, код сваког пацијента појединачно. Закључено је да се тако стиче увид у међусобне разлике у способности самообнове матичних ћелија пореклом из различитих пацијената.

Анализа експресије гена кључних за рану фазу хондрогенезе показала је да потенцијал матичних ћелија остаје очуван и у касним пасајима. Штавише, квантификациона анализа релативних експресија гена у aMMТ, током хондрогене диференцијације у *in vitro* условима, показала је да су експресиони нивои гена *SOX5*, *SOX6* и *COL1A1* потенцијални прогностички маркери ефикасности хондрогене диференцијације.

Закључено је на основу предходних резултата да би се мерењем експресионих профила одабраних гена маркера хондрогенезе заједно са генима матичности, уз додатна истраживања, могао добити податак о томе у ком пасажу би ћелије испољиле своју максималну терапијску ефикасност за сваког пацијента посебно, чиме би се допринело оптимизацији и индивидуализацији овог терапијског приступа.

У поглављу **Литература**, наведен је списак од 347 цитираних страних и домаћих научних часописа и књига. Коришћена литература је адекватна, актуелана и довољно широка да покрива све аспекте истраживања. Навођења литературе у самом тексту дисертације примерена и по садржају и по месту.

### 3. БИБЛИОГРАФИЈА

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

#### Радови у часописима међународног значаја

1. **M Vreca**, M Andjelkovic, N Tomic, A Zekovic, N Damjanov, S Pavlovic and V Spasovski. Impact of alterations in X-linked IRAK1 gene and miR-146a on susceptibility and clinical manifestations in patients with systemic sclerosis. *Immunol Lett.* 2018; 204:1-8. **M22 IF 2.860 (2016)**

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30308218>

2. **M Vreca**, A Zekovic, N Damjanov, M Andjelkovic, M Ugrin, S Pavlovic and V Spasovski. Expression of TLR7, TLR9, JAK2 and STAT3 genes in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic sclerosis. *J Appl Genet.* 2018; 59(1):59-66 **M23 IF 1.756 (2017)**

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29147913>

#### **Радови у часописима домаћег значаја**

#### **Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја**

1. **M Vreca**, V Spasovski, A Zekovic, N Damjanov, M Andjelkovic, M Ugrin and S Pavlovic. Expression of TLR7, TLR9, JAK2 and STAT3 genes in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic sclerosis.” 5th Systemic Sclerosis World Congress”, 15-17 februar, 2018, Bordo, Francuska. *Journal of Scleroderma and related Disorders* str.34-5. **M34**
2. S Pavlovic, **M Vreca**, M Andjelkovic, A Zekovic, N Damjanov, and V Spasovski. Impact of alterations in X-linked IRAK1 gene and miRNA-146a on susceptibility and clinical manifestations in patients with systemic sclerosis. ” 5th Systemic Sclerosis World Congress”, 15-17 februar, 2018, Bordo, Francuska. *Journal of Scleroderma and related Disorders* str.43-4. **M34**
3. **M Vreca**, V Spasovski, M Andjelkovic, M Stojiljkovic, N Tomic, A Zekovic, N Damjanov and S Pavlovic. Detection of potential factors for monitoring disease in patients with systemic sclerosis in population of Serbia. *Genomic Medicine- Bridging research and the clinic*, 03-07 Maj 2016, Portorož, Slovenija. *Knjiga apstrakata*: str88 **M34**
4. **M Vreca**, V Spasovski, M Andjelkovic, M Stojiljkovic, N Tomic, A Zekovic, N Damjanov and S Pavlovic. Detection of potential susceptibility factors in patients with systemic sclerosis in population of Serbia. *Journal of Scleroderma and Related disorders*; 1(1): 43. 18-20 Februar, 2016. Lisabon, Portugal. **M34**
5. **M Vreca**, V Spasovski, M Andjelkovic, M Stojiljkovic, A Skakic, A Momcilovic, A Zekovic, N Damjanov, S Pavlovic. High expression level of IL-6 in patients with systemic sclerosis in

population of Serbia. 11th Balkan Congress of Human Genetics, 17-20 Septembar, 2014, Sava Centar, Beograd, Srbija. Knjiga apstrakata: str.91. **M34**

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

1. **M Vreca**, M Andjelkovic, N Tomic, A Skakic, J Komazec, V Spasovski i S Pavlovic. Nivoi ekspresije miR-146a i njenog targeta IRAK1 gena kao potencijalno novi biomarkeri u sistemske sklerozi. "Drugi kongres biologa Srbije", 25-30 Septembar, 2018, Kladovo, Srbija. Knjiga sazetaka: str.279 **M64**

#### 4. МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

Докторска дисертација кандидаткиње **Мише М. Вреће**, под насловом „Експресије гена маркера инфламације и фиброзе и гена кандидата за оптимизовану хелијску терапију код пацијената са системском склерозом“ представља оригиналан научни рад који се бави откривањем молекуларних механизма које се налазе у основи патолошких промена у системској склерози. Истраживања у вези са новим терапијским приступима су посебно драгоцене и актуелне. Теза се одликује јасно дефинисаним циљевима и адекватно планираним и успешно реализованим истраживачким поступком.

Остварени резултати објављени су у оквиру два оригинална научна рада, што потврђује актуелност и значајност добијених резултата:

**М Vreca**, M Andjelkovic, N Tomic, A Zekovic, N Damjanov, S Pavlovic and V Spasovski. Impact of alterations in X-linked IRAK1 gene and miR-146a on susceptibility and clinical manifestations in patients with systemic sclerosis. *Immunology Letters*. 2018; 204:1-8. (M22, IF<sub>2016</sub> 2.860) и

**М Vreca**, A Zekovic, N Damjanov, M Andjelkovic, M Ugrin, S Pavlovic and V Spasovski. Expression of TLR7, TLR9, JAK2 and STAT3 genes in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic sclerosis. *The Journal of Applied Genetics*, 2018; 59(1):59-66. (M23 IF<sub>2017</sub> 1.756,)

На основу увида у експериментални рад, постигнуте резултате као и написану докторску тезу, Комисија закључује да су задаци постављени у циљевима испуњени, тако да позитивно оцењује докторску тезу и има задовољство да предложи Наставно-научном већу Биолошког факултета, Универзитета у Београду, да прихвати позитивну оцену докторске дисертације Мише М. Вреће и омогући кандидаткињи јавну одбрану рада.

#### КОМИСИЈА:

---

др Весна Спасовски, научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду (ИМГГИ), ментор

---

др Соња Павловић, научни саветник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, ментор

---

др Горан Брајушковић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, члан

---

др Светлана Радовић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, члан

---

др Немања Дамјанов, редовни професор, Медицински факултет, Универзитет у Београду, члан

У Београду, 17. децембар 2018. године