

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

Датум пријема	25.10.19
Ср. бр.	12782/3-3
Ср. бр. катедре	

ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У
КРАГУЈЕВЦУ О ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 16. 09. 2019. године, одлуком број IV-03-716/33 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Утицај галектина-3 у модулацији понашања“ канидата Далибора Стајића, у следећем саставу:

1. **Проф. др Тихомир Илић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Неурологија, председник;
2. **Академик проф. др Душица Лечић-Тошевски**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Психијатрија, члан;
3. **Проф. др Нела Ђоновић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хигијена и екологија, члан;
4. **Доц. др Драгица Селаковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан;
5. **Доц. др Немања Јовичић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију канидата Далибора Стајића и подноси Научно-наставном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

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

Докторска дисертација кандидата Далибора Стајића под називом „Утицај галектина-3 у модулацији понашања“, урађена под менторством проф. др Миодрага Лукића, професора емеритуса Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија и проф. др Гвоздена Росића, редовног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, представља оригиналну научну студију која се бави испитивањем утицаја галектина-3 (*galectin-3*, Gal-3) на бихевиоралне карактеристике мишева у базалним условима и акутној неуроинфламацији.

Gal-3 припада фамилији лектина који се везује за β -галактозиде са високим афинитетом. Gal-3 може имати различите, некада и супротне функције, у зависности од локализације и врсте патолошког процеса. Овај лектин учествује у ћелијској активацији, пролиферацији, диференцијацији, адхезији, миграцији, апоптози, фагоцитози и регулацији инфламације. Gal-3 функционише као рецептор који препознаје молекулске обрасце на површини микроорганизама, активира фагоците и појачава њихову микробицидну способност, подстичући инфламацију. Gal-3 се експримира у нервним ткивима, укључујући мозак, кичмену мождину, дорзалне ганглије (*dorsal root ganglia*, DRG). Модулацијом својстава екстрацелуларног матрикса, Gal-3 подстиче адхезију нервних ћелија и раст неурита и регулише миграцију неурона.

На присуство инфламацијских стимулуса (липополисахарид пореклом из бактерија (*lipopolysaccharide*, LPS)), микроглија секретује Gal-3 који представља ендогени лиганд за *Toll-like* рецептор-4 (TLR4), чиме узрокује активацију проинфламацијског M1 фенотипа. Gal-3 има улогу у прогресији Паркинсонове болести, доприноси развоју болести у експерименталном аутоимунском енцефаломијелитису (EAE) и учествује у акумулацији измењених протеина код прионских болести. Насупрот томе, Gal-3 има заштитну, антиинфламацијску улогу у амиотрофичној латералној склерози и доприноси процесу ремоделовања мозданог ткива након исхемијског оштећења, тако што подстиче ангиогенезу и неурогенезу. Проинфламацијски цитокини (TNF- α и IL-6) директно делују на неуротрансмисију и утичу на промене у понашању. Примена LPS-а код мишева узрокује понашање слично депресији и анксиозности.

Gal-3 стимулише диференцијацију олигодендроцита и има важну улогу током ремиелинизације. Промене у структури мијелина код Gal-3 дефицијентних (Gal-3^{-/-}) мишева могу изазвати одређене промене у понашању. Резултати истраживања указују на велики значај неуротрофног фактора пореклом из мозга (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) и главног инхибиторног неуротрансмитера, гама-аминобутерне киселине (*γ-Aminobutyric acid*, GABA) у настанку анксиозних и депресивних поремећаја. Истраживањима је утврђена повезаност између Gal-3 и BDNF-а. Утврђено је да је BDNF битан неуротрофин који учествује у опстанку, пролиферацији и диференцијацији неурона. BDNF може повећати пластичност неурона и неопходан је за развој и регулацију синаптичке трансмисије ГАБАергичких неурона. У хипокампусу се налазе две веома битне групе неурона: главни неурони (одговорни за екстрапирамидалне конекције) и интернеурони (одговорни за локалне конекције унутар хипокампуса који су преодминантно ГАБАергички), због чега он има битну улогу у когнитивним и емоционалним процесима.

Досадашњим истраживањима углавном је испитиван ефекат Gal-3 на понашање у одређеним патофизиолошким стањима. Међутим, још увек није спроведена студија која би омогућила дефинисање могуће улоге Gal-3 у регулацији понашања под физиолошким условима, применом одговарајућих стандардизованих тестова за анализу понашања у анималним експерименталним моделима. Иако је познато да Gal-3 поспешује неуроинфламацију индуковану LPS-ом, до сада није спроведено истраживање којим би се утврдио последични ефекат на понашање и евалуирале могуће промене експресије рецепторских субјединица за главни инхибиторни неуротрансмитер хипокампуса и експресије неуротрофног фактора раста пореклом из мозга код Gal-3^{-/-} мишева.

Анализом резултата овог истраживања закључује се да делесија гена за Gal-3 у базалним условима утиче на повећање степена анксиозности мишева, док током акутне неуроинфламације има анксиолитички ефекат. Овим истраживањем је потврђена повезаност делесије гена за Gal-3, параметара тестова понашања и промена експресије рецептора неуротрансмитера и неуротрофног фактора одговорних за контролу понашања, као и концентрације проинфламацијских цитокина у хипокампусу.

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 „*KoBSON*”, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*galectin-3*”, „*behavior*”, „*neuroinflammation*”, „*lipopolysaccharides*”, „*cytokines*”, „*Toll-like receptor-4*”, „*brain-derived neurotrophic factor*”, „*GABA-A receptor*”, „*hippocampus*” и „*mice*” нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Далибора Стајића под називом „Утицај галектина-3 у модулацији понашања” представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Далибор Стајић је рођен 19.08.1985. године у Врању. Основну и средњу Медицинску школу је завршио у Врању са одличним успехом. Медицински факултет у Крагујевцу уписао је школске 2004/2005. године, а звање доктора медицине стекао је 09.07.2010. године са просечном оценом 9.29. Након завршених студија обавио је обавезан приправнички стаж и положио стручни испит 2011. године.

Од 1. јула 2013. до 30. јуна 2014. године био је ангажован у Дому здравља Крагујевац, на пројекту Министарства здравља „Пружање унапређених услуга на локалном нивоу – DILS”.

Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу уписао је школске 2014/2015. године – изборно подручје Имунологија, инфекција и инфламација. Све испите предвиђене планом и програмом студија положио је са просечном оценом 9.83. Усмени докторантски испит положио је у априлу 2017. године са оценом 10.

Специјалистичке студије из Хигијене уписао је на Факултету медицинских наука у Крагујевцу децембра школске 2015/2016. године, звање специјалисте Хигијене стекао 25. 02. 2019. године.

За сарадника у настави за ужу научну област Хигијена и екологија на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу изабран је 18. 12. 2014. године.

Децембра 2016. изабран је у звање асистента за ужу научну област Хигијена и екологија.

Учествовао је у извођењу практичне наставе на предметима Исхрана у здрављу и болести и Историја стоматологије. Активно учествује у извођењу практичне наставе на предметима Нутритивни суплементи, Спортска фармација, Броматологија, Хигијена и екологија, Примарна здравствена заштита, Хигијена и епидемиологија, Геријатрија са негом, и Народно здравље у оквиру студијских програма: Интегрисане академске студије медицине, Интегрисане академске студије фармације, Интегрисане академске студије стоматологије и Основне струковне студије.

Руководилац је интерног-јуниор пројекта Факултета медицинских наука евиде. бр. ЈП 07/17 под називом „Утицај галектина-3 на настанак бихевиоралних промена у базичним условима и током неуроинфламације“.

Тема докторске дисертације под називом „Утицај галектина-3 у модулатији понашања“ прихваћена је 2019. године одлуком Већа медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (одлука број IV-03-584/15, од 10. 07. 2019).

Кандидат је аутор више оригиналних научних радова и први аутор у два рада објављена у часописима индексираним на SCI листи. Резултати рада наведени под редним бројем 1 саставни су део докторске дисертације, чиме је кандидат испунио услов за одбрану докторске дисертације.

У истраживању под називом „The role of galectin-3 in modulation of anxiety state level in mice” у коме је кандидат први аутор представљен је део резултата саме докторске дисертације. Циљ овог истраживања је био да се процени улога делације гена за Gal-3 у модулатији нивоа анксиозности код мишева. На основу резултата овог истраживања закључује се да у базалним условима делација гена за Gal-3 повећава ниво анксиозности, док у условима акутне неуроинфламације индуковане применом LPS-а има анксиолитички ефекат. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије M21a (Brain, Behavior, and Immunity. 2019; 78: 177-187)

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

1. **Stajic D**, Selakovic D, Jovicic N, Joksimovic J, Arsenijevic N, Lukic ML, Rosic G. The role of galectin-3 in modulation of anxiety state level in mice. Brain, Behavior, and Immunity. 2019; 78: 177-187. **M21a**

2. **Stajic D**, Popovic B, Spajak M, Ribaric S, Djonovic N. Is there an association between nutritional status and intellectual capabilities of adolescents? *Progress in Nutrition*. 2018; 20(2): 279-289. **M23**

3. **Stajic D**, Zivanovic S, Miric A, Sekulic M, Djonovic N. Prevalence of risk factors among women with osteoporosis. *Ser J Exp Clin Res*. 2017; 18 (3):239-243. **M51**

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

Спроведено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација кандидата Далибора Стајића садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви и хипотезе истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Написана је на 192 стране и има 1 табелу и 49 слика. Поглавље Литература садржи 548 цитираних библиографских јединица из иностраних и домаћих стручних публикација.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на свеобухватан, јасан и прецизан начин, цитирајући релевантну литературу изложио актуелна сазнања о молекулу Gal-3, о његовим физиолошким улогама, као и о великом значају овог молекула у различитим патолошким процесима. Такође је детаљније описана улога коју Gal-3 има у инфламацији и неуроинфламацији и наведени су резултати досадашњих истраживања која се баве бихевиоралним променама повезаним са неуроинфламацијом и делецијом гена за Gal-3. У овом делу су објашњени бихевиорални тестови који се користе на анималним моделима. Такође су описане битне улоге одређених цитокина, неуротрофног фактора пореклом из мозга и субјединица GABA-A рецептора, параметара који су повезани са поремећајима понашања и неуроинфламацијом.

Циљеви и хипотезе истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Кандидат је у свом раду намеравао да испита утицај делеције гена за Gal-3 на резултате бихевиоралних тестова мишева соја C57BL/6 старости 20 недеља, у базалним условима и 24 h након апликације LPS-а (акутна неуроинфламација). Такође, планирано је утврђивање повезности бихевиоралних промена са релевантним параметрима неуроинфламације и хипокампаалним факторима који учествују у регулацији понашања.

Материјал и методологија рада су детаљно и прецизно формулисани и подударују се са одобреним приликом пријаве тезе. Истраживање је дизајнирано као

експериментална студија на животињама *in vivo* и на узоркованом материјалу *in vitro*. У истраживању је коришћено укупно 32 миша (16 WT и 16 Gal-3^{-/-}) соја C57BL/6, мушког пола, старости 20 недеља. Код ових мишева обављени су тестови понашања и анализе у базалним условима и у акутној неуроинфламацији 24 часа након апликације LPS-а. Неуроинфламација је индукована код 8 WT и 8 Gal-3^{-/-} мишева применом LPS-а (*E. coli* 055:B5; L2880, *Sigma-Aldrich*) интраперитонеално, у једној дози од 5 mg/kg (0.5 ml), док се у преостале две групе мишева (8 WT и 8 Gal-3^{-/-}) апликовала иста количина физиолошког раствора интраперитонеално (за испитивања у базалним условима). Након бихевиоралних тестова животиње су жртвоване, изоловано је ткиво хипокампуса и спроведене су анализе релевантних параметара повезаних са променама у понашању и неуроинфламацијом.

Резултати истраживања су систематично приказани и документовани на одговарајући начин. Показано је да делеција гена за Gal-3 у базалним условима утиче на настанак промена у понашању, има изразити анксиогени ефекат, док у условима акутне неуроинфламације индуковане применом LPS-а атенуира неуроинфламацију и последичне промене у понашању. Утврђено је да су бихевиоралне промене повезане са променама генске експресије субјединица 2 и 5 GABA-A рецептора (GABA-AR2S и GABA-AR5S) и BDNF-а и концентрације проинфламацијских цитокина (TNF- α и IL-6) у хипокампусу.

У поглављу „Дискусија” детаљно су објашњени резултати истраживања, тако што је појединачно образложен утицај делеције гена за Gal-3 на резултате бихевиоралних тестова за процену степена анксиозности и депресивности у базалним условима и током акутне неуроинфламације. Такође је детаљно размотрена повезаност делеције гена за Gal-3 и акутне неуроинфламације индуковане LPS-ом са променама у понашању и проинфламацијским цитокинима, TLR4, BDNF-ом, GABA-AR2S и GABA-AR5S у хипокампусу.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата Далибора Стајића под називом „Утицај галектина-3 у модулацији понашања”, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

На основу резултата истраживања могу да се изведу закључци да Gal-3 има важну улогу у регулисању степена анксиозности. Резултати истраживања показују да су наизглед супротни ефекти Gal-3 дефицијенције на ниво анксиозности (анксиогени ефекат у базалним условима и анксиолитичко дејство током неуроинфламације) повезани са променама генске експресија и садржаја IL-6, TNF-а и BDNF-а у хипокампусу. Код одраслих нетретираних животиња (базални услови) делеција гена за Gal-3 имала је анксиогени ефекат. Овај ефекат је праћен смањењем релативне експресије гена и садржаја IL-6 и TNF- α у хипокампусу, без значајног утицаја на хипокампаљну експресију гена за TLR4. Делеција гена за Gal-3 је такође била праћена смањењем релативне генске експресије и BDNF имунореактивности, нарочито у CA1 региону хипокампуса. Поред тога, делеција гена за Gal-3 довела је до смањења релативне експресије гена за субјединице 2 и 5 GABA-A рецептора у хипокампусу. У базалним условима делеција гена за Gal-3 није имала значајног утицаја на повећање нивоа депресивности. Код WT мишева је анксиогени ефекат LPS-ом индуковане неуроинфламације био праћен повећаном хипокампаљном експресијом гена за IL-6, TNF- α и TLR4, као и смањеном генском и имунохистохемијском експресијом BDNF-а у хипокампусу, уз значајно смањење GABA-AR2S у поређењу са вредностима добијеним у базалним условима. Међутим, делеција гена за Gal-3 је спречила повећање IL-6 и смањење генске експресије и имунореактивности BDNF-а, као и редуцију хипокампаљних GABA-AR2S, ублажавајући анксиогени ефекат неуроинфламације индуковане LPS-ом. Претпостављени механизам утицаја Gal-3 на понашање у базалним условима је да Gal-3 повећава садржај BDNF-а у хипокампусу, повећање BDNF-а повећава експресију GABAергичких рецептора, а повећање броја GABAергичких рецептора у хипокампусу смањује степен анксиозности.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригиналан и веома важан допринос разумевању повезаности између промена у понашању и делеције гена за Gal-3, експресије рецепторских субјединица главног инхибиторног неуротрансмитера GABA-е и неуротрофног фактора пореклом из мозга, одговорних за контролу понашања мишева и концентрације проинфламацијских цитокина у хипокампусу. Резултати овог

истраживања доприносе разумевању патофизиолошких процеса који се налазе у основи промена понашања насталих услед делеције гена за Gal-3 у базалним условима и током акутне неуроинфламације. Добијени резултати указују на могућност потенцијалног третирања бихевиоралних поремећаја применом фармаколошких и биолошких модулатора нивоа Gal-3.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на *SCI* листи (категорија M20).

1. **Stajic D**, Selakovic D, Jovicic N, Joksimovic J, Arsenijevic N, Lukic ML, Rosic G. The role of galectin-3 in modulation of anxiety state level in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2019; 78: 177-187. **M21a**

ЗАКЉУЧАК

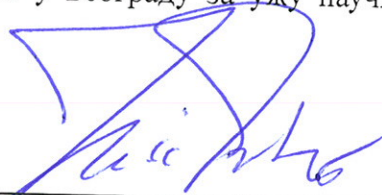
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Далибора Стајића под називом „Утицај галектина-3 у модулацији понашања“ сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Далибора Стајића, под менторством проф. др Миодрага Лукића и проф. др Гвоздена Росића, представља оригинални научни допринос у испитивању ефеката делеције гена за Gal-3 на понашање.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Утицај галектина-3 у модулацији понашања“, кандидата Далибора Стајића буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

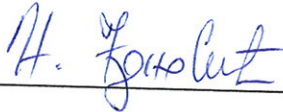
1. **Проф. др Тихомир Илић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Неурологија, председник;



2. **Академик проф. др Душица Лечић-Тошевски**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Психијатрија, члан;



3. **Проф. др Нела Ђоновић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хигијена и екологија, члан;



4. **Доц. др Драгица Селаковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан.



5. **Доц. др Немања Јовичић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан;



У Крагујевцу, 19. 09. 2019. године.