

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

-обавезна садржина- свака рубрика мора бити попуњена

(сви подаци уписују се у одговарајућу рубрику, а назив и место рубрике не могу се мењати или изоставити)

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију</p> <p>Комисију је именовало Наставно-научно веће Пољопривредног факултета, Универзитета у Новом Саду 11.03.2016.</p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>Ментор: проф. др Бранислава Белић, редовни професор, патологија, Пољопривредни факултет Нови Сад, Департман за ветеринарску медицину.</p> <p>Чланови комисије: Проф. др Бранислава Белић, редовни професор, Патологија-Патофизиологија, Пољопривредни факултет Нови Сад, департман за ветеринарску медицину Доц. др Марко Цинцовић, доцент, Патологија-Патофизиологија, Пољопривредни факултет Нови Сад, Департман за ветеринарску медицину. Академик Миодраг Чолић, професор емеритус, имунологија, Медицински факултет Војномедицинске академије, Универзитет одбране у Београду</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Милијана, Митка, Васиљевска</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 04. 08. 1954., Ниш, Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив: Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду, мр сци. вет. мед.</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија: 2016., Пољопривредни факултет, Департман за ветеринарску медицину, Нови Сад</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: Факултет ветеринарске медицине, Универзитет у Београду, „Имбредовање и основне биолошке карактеристике пацова соја VMA“, биологија, ветерина, 26.03.2006.</p>
<p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: Биологија и ветерина</p>
III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ: „Карактеристике акутне запаљенске реакције мишева са уклоњеним геном за макрофагни инхибиторни фактор“

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са знаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикона и сл.

кратак садржај:

Циљ овог рада је био да се испитају карактеристике стерилне запаљенске реакције у мишева са делецијом *Mif* гена, коришћењем модела субкутане имплантације поливинилских сунђера. Иако је MIF познат про-инфламацијски цитокин о његовом утицају на процесе регенерације након оштећења ткива постоје контрадикторни подаци. Због тога су у покушају разумевања овог проблема испитивани динамика промена ћелијских елемената у ексудату ране, процеси апоптозе инфламацијских ћелија и њихова функционална способност *in vitro* (адхезивност и продукција NO). Ови параметри су повезивани са нивоом различитих биомолекула у ексудату (про- и анти-инфламацијских цитокина), хемокина; фактора раста реактаната акутне фазе и NO). Добијени резултати су поређени са резултатима код контролног дивљег соја C57BL/6 (*Mif*^{+/+}) мишева са очуваним *Mif* геном. Показано је да рану фазу инфламације (24 часа после имплантације сунђера) карактерише смањено накупљање неутрофилних гранулоцита, мања продукција IL-β, IFN-γ, IL-12 и NO, повећана продукција IL-33 и GM-CSF и неочекивано мања апоптоза неутрофила у односу на дивљи сој мишева. Сходно очекивању, инфламацијске ћелије у култури су продуковале више NO, имале већу спонтану апоптозу која се битније није мењала под утицајем LPS-а, али су такође неочекивано имале повећану адхезивност за пластику. Касну фазу инфламације (10. дана од имплантације сунђера) је карактерисало мање накупљање гранулоцита; макрофага и дендритских ћелија што није било повезано са бројем неутрофила и моноцита у периферној крви, веће стварање цинковских мултиједарних макрофага и повећање апоптозе како неутрофила тако и макрофага. У ексудату су нађени нижи нивои NO, IL-β, TNF-α и CXCL10 а повећани нивои IL-12, IL-33, IL-1Ra и CRP. Инфламацијске ћелије су у култури продуковале ниже нивое NO али су, слично као у раној фази, имале повећану спонтану и индуковану адхезивност за пластику, у односу на дивљи сој мишева. На основу добијених резултата се може закључити да преминација анти-инфламацијских медијатора код *Mif*^{-/-} мишева, праћена смањеном мобилизацијом инфламацијских ћелија у повређено ткиво и повећањем њихове апоптозе, могу деловати повољно на бржу резолуцију инфламације.

Докторска дисертација кандидаткиње мр.сц. вет. мед. Милијане Васиљевске написана је на **118 страна**. Садржи **једну табелу**, **46 графикона** и **четири слике**. Цитирано је **168 референци**. Садржи **седам поглавља**: Увод; Хипотезу и циљеве истраживања; Материјал и методе истраживања; Резултати; Дискусија; Закључци и Литература.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов рада је јасан, прецизан и упућује на тему истраживања односно на експериментални модел који је коришћен.

Садржај докторске дисертације је адекватно нумерисан. Наслови и поднаслови су прегледни и јасни.

Увод је написан на 28 страна и подељен на неколико целина. У првом делу увода кандидаткиња је описала основне карактеристике миша као модела за истраживање, са посебним освртом на значај и улогу инбредних сојева мишева (C57BL/6) и генетски модификованих животиња у савременим истраживањима. У даљем тексту, дат је приказ савремених схватања развоја и улоге инфламације у патофизиолошким процесима. Детаљно је описана функција кључних инфламацијских ћелија (неутрофилних гранулоцита и макрофага) и молекуларни механизми њиховог деловања. Даље, описане су специфичности реакције на страном телу а посебно је детаљно дат приказ биолошке улоге фактора инхибиције макрофага (MIF) са посебним освртом на инфламацију. Комисија сматра да су у уводу јасно и на разумљив начин дате основе за разумевање проблематике истраживања и њену актуелност.

Хипотеза и циљеви истраживања су написани на две стране, садрже јасне и реалне циљеве истраживања у складу са пријавом теме. На основу досадашњих истраживања постављене су хипотезе:

1. Код C57BL/6 мишева са уклоњеним геном за фактор инхибиције макрофага (*Mif*^{-/-} мишева) је смањена запаљенска реакција након субкутане имплантације стерилних поливинилских сунђера у односу на дивљи сој (*Mif*^{+/+}) мишева.

2. Смањење запаљења у *Mif^{-/-}* мишева је последица смањења броја инфламацијских ћелија у ексудату које није повезано са бројем неутрофилних гранулоцита и моноцита у крви, смањења концентрације NO и про-инфламацијских цитокина (IL-1 β , IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α , CXCL-10, GM-CSF) и C-реактивног протеина (CRP), а повећања концентрације IL-1Ra и IL-33.
3. Инфламацијске ћелије изоловане из ексудата имају смањену адхезивну способност, повећану апоптозу и различит одговор на додатну стимулацију у култури у односу на инфламацијске ћелије дивљег соја мишева.
За проверу ових хипотеза кандидаткиња је поставила следеће циљеве истраживања:

Код *Mif^{-/-}* и контролних *Mif^{+/+}* мишева одредити и међусобно упоредити:

1. Биолошке карактеристике и хематолошке параметре у периферној крви.
2. Укупан број инфламацијских ћелија у ексудату у раној (24 часа) и касној фази (10 дана) инфламације после субкутане имплантације поливинилских сунђера.
3. Релативан и укупан број појединих субпопулација инфламацијских ћелија.
4. Степен спонтане апоптозе инфламацијских ћелија *ex vivo* и у култури након стимулације LPS-ом.
5. Концентрацију нитрита у ексудату и супернатантима култура инфламацијских ћелија, као показатеља продукције NO.
6. Степен спонтане и форбол миристанат ацетатом (PMA)-индуковане адхезије инфламацијских ћелија за пластику.
7. Концентрацију цитокина IL-1 β , IL-1Ra, IL-12, IL-17, IL-33, IFN- γ , TNF- α , CXCL-10, GM-CSF и CRP у ексудату.

Материјал и методе истраживања су написани на осам страна, прецизно и систематично и омогућавају поновљивост експеримената и анализа. Истраживања су спроведена на Институту за медицинска истраживања (ИМИ) Војномедицинске академије (ВМА) у Београду. Најпре су наведени медијуми, пуфери и реагенси који су коришћени у овим истраживањима. У експериментима су коришћени мишеви соја C57BL/6 (контролна група) и C57BL/6 *Mif^{-/-}* (експериментална група), оба пола, старости 8-10 недеља, тежине 22-24 г. Животиње су одгајане и размножаване у виваријуму Института за медицинска истраживања ВМА у Београду.

Примењен је експериментални модел инфламације (субкутана имплантација поливинилских сунђера) по методи Миддлетон и сар., а који је раније успостављен у ИМИ ВМА. Инфламацијске ћелије су изоловане након 24 часа односно 10. дана након имплантације сунђера и коришћене су за морфолошка и функционална испитивања *ex vivo* и у култури. Истовремено извршена је и анализа ексудата из сунђера. Апоптоза је детектована применом морфолошког метода и помоћу *Dead Cell Apoptosis Kit* (Invitrogen Biosource, Карлсбад, САД) који садржи Annexin V Alexa Fluor 488 и PI. Примењени су следећи тестови за процену функционалне активности инфламацијских ћелија: детекција нитрита (по Griess-у), тест адхезије за пластику и одређивање концентрације цитокина и C реактивног протеина (применом комерцијалних ELISA китова). За статистичку обраду коришћен је Student-ов t тест. Вредности са $p < 0.05$, и мање су сматране статистички значајним. Обрада података урађена је помоћу статистичког програма GraphPad Prism 5.

Комисија сматра да су изабране методе адекватне, одговарају постављеним циљевима и омогућавају добијање валидних и квалитетних научних резултата.

Резултати истраживања су уверљиво и стручно приказани на 50 страна и садрже једну табелу, четири слике и 46 графикана. Подељени су у више целина у циљу боље прегледности и јаснијег приказа.

Када су у питању биолошке карактеристике, резултати су показали велику сличност у свим посматраним параметрима између *Mif^{-/-}* мишева и контролног *Mif^{+/+}* соја C57BL/6 мишева. Једина фенотипска разлика се односила на нешто светлију кожу *Mif^{+/+}* мишева у односу на *Mif^{-/-}* мишеве која се видела након шишања животиња, а пре имплантације поливинилских сунђера. Анализом динамике раста приказано је да је између 14. и 21. дана пораст телесне масе и женки и мужјака *Mif^{-/-}* мишева био статистички значајно већи у односу на женке и мужјаке *Mif^{+/+}* мишева. Такође је, како 14. тако и 21. дана, нађена статистички значајно већа телесна маса код оба пола у *Mif^{-/-}* мишева. Достицањем животног периода од 3 месеца, та разлика више није била статистички значајна у случају мужјака, док су женке *Mif^{-/-}* мишева и у овом термину биле значајно теже од женки *Mif^{+/+}* мишева. Нису нађене статистички значајне разлике у релативним и укупним вредностима броја неутрофилних гранулоцита, еозинофила и базофила између сојева, како код мужјака, тако и код женки.

Није уочена статистички значајна разлика у запремини инфламацијског ексудата из сунђера између *Mif^{-/-}* и

дивљег соја $Mif^{+/+}$ мишева.

Најпре су приказани резултати анализе инфламацијских ћелија 24 часа након имплантације сунђера.

Поређењем укупног броја инфламацијских ћелија изолованих из мишева, показана је значајно мања целуларност у $Mif^{-/-}$ мишева у односу на контролни $Mif^{+/+}$ сој, а слична разлика је показана и када је одређиван број инфламацијских ћелија изражен по милилитру екседата.

Када је у питању састав инфламацијских ћелија, показано је да је у $Mif^{-/-}$ мишева проценат ових ћелија статистички значајно мањи ($76.5 \pm 8.3\%$) у односу на контролни дивљи сој мишева ($86.7 \pm 1.5\%$). Процентуално смањење неутрофилних гранулоцита у $Mif^{-/-}$ мишева је било на рачун повећања процента макрофага ($23.5 \pm 8.3\%$) и та разлика је била статистички значајна у односу на проценат макрофага код $Mif^{+/+}$ мишева ($13.3 \pm 1.5\%$). Међутим, анализом укупног броја ових ћелија (израженог по милилитру екседата, односно када је извршено прерачунавање укупног броја неутрофилних гранулоцита, односно макрофага по мишу), показано је да је смањење укупног броја неутрофилних гранулоцита у $Mif^{-/-}$ мишева било израженије него релативно смањење броја ових ћелија у односу на укупну целуларност у контролног дивљег соја мишева. Није показана статистички значајна разлика у укупном броју макрофага без обзира на начин њиховог прерачунавања.

Такође, показано је да је проценат апоптотских неутрофилних гранулоцита статистички значајно мањи у мишева са делецијом Mif гена ($2.3 \pm 1.2\%$) у односу на контролни дивљи сој ($4.9 \pm 1.0\%$). Када су анализирани фазе апоптозе запажено је да је укупан проценат апоптотских ћелија код $Mif^{-/-}$ мишева ($9.1 \pm 1.4\%$) статистички значајно мањи у односу на $Mif^{+/+}$ мишеве ($16.0 \pm 2.0\%$), и та разлика се односила на касну фазу апоптозе/секундарне некрозе ($5.6 \pm 1.3\%$ у односу на $11.9 \pm 2.2\%$).

Анализом продукције NO у екседату показан је статистички значајно нижи ниво NO₂ у екседату $Mif^{-/-}$ мишева у односу на контролни сој мишева.

Испитивањима концентрације цитокина у екседату показано је да је у мишева са делецијом Mif гена ниво IL-1 β (1528 ± 65 pg/ml) статистички значајно нижи у односу на вредности у екседату дивљег соја мишева (1638 ± 55 pg/ml). Разлике су још израженије када је у питању ниво TNF- α чија концентрација код $Mif^{-/-}$ мишева износи (317.3 ± 15.39 pg/ml), а у контролних $Mif^{+/+}$ мишева (423.3 ± 6.43 pg/ml). Нивои IL-1RA (антагонист IL-1 β) је такође био статистички значајно нижи (7470 ± 487.6 pg/ml) у $Mif^{-/-}$ мишева у односу на контролни сој (8956 ± 556.4 pg/ml) мишева. Концентрације IL-12 (169.8 ± 3.97 pg/ml) и IFN- γ (36.94 ± 1.6 pg/ml) су такође биле статистички значајно ниже у $Mif^{-/-}$ мишева у односу на контролни сој (211.9 ± 24.94 pg/ml -IL-12), односно (49.29 ± 4.9 pg/ml - IFN- γ). Супротни резултати су добијени анализом нивоа IL-33 и GM-CSF-а. Наиме, концентрације IL-33 у екседату $Mif^{-/-}$ мишева су износиле (164.9 ± 9.01 pg/ml), а у дивљег соја (146.2 ± 13.23 pg/ml). Концентрације GM-CSF-а у екседату $Mif^{-/-}$ мишева су износиле (61.19 ± 8.0 pg/ml), а у контролног соја (49.67 ± 5.1 pg/ml). Нису уочене статистички значајне разлике у нивоима CXCL-10, IL-17 и CRP у екседату између испитиваних сојева мишева.

У даљој анализи функционалних карактеристика инфламацијских ћелија показано је да је адхезија ових ћелија изолованих из $Mif^{-/-}$ мишева у култури била статистички значајно већа у односу на ћелије изоловане из сунђера контролних $Mif^{+/+}$ мишева. Стимулација ћелија са PMA је довела до повећане адхезивности ћелија, али је након стимулације адхезија у $Mif^{-/-}$ мишева била још израженија него код нестимулисаних ћелија.

Одређивањима продукције NO₂ је показана статистички значајно нижа концентрација NO₂ у супернатантима култура ћелија изолованих из екседата $Mif^{-/-}$ мишева након 24 часа. Додавање LPS-а је довело до статистички значајног пораста нивоа NO₂ у културама оба соја мишева, али међусобне разлике нису биле статистички значајне.

Мерењима апоптозе инфламацијских ћелија у култури добијени су супротни резултати у односу на резултате *in vivo*. Апоптоза инфламацијских ћелија је била статистички значајно већа ($60.9 \pm 3.7\%$) у $Mif^{-/-}$ мишева у односу на контролни, дивљи сој ($46.2 \pm 5.7\%$), и та се разлика односила на већи % ћелија у касној фази апоптозе/секундарне некрозе ($44.3 \pm 3.8\%$ код $Mif^{-/-}$ мишева у односу на $33.9 \pm 4.4\%$ код дивљег соја мишева). Додавање LPS-а у ћелијске културе било је праћено повећањем апоптозе инфламацијских ћелија код дивљег соја мишева и то на рачун већег процента ћелија у касној фази апоптозе, али не и код мишева са делецијом Mif гена.

Испитивањима касне фазе инфламације, 10. дана након имплантације сунђера је показано следеће: запремина екседата је била статистички значајно мања у $Mif^{-/-}$ мишева. Такође, слично налазима у раној фази, детектована је значајно мања целуларност у $Mif^{-/-}$ мишева у односу на контролни $Mif^{+/+}$ сој. Слична разлика је добијена и када је број инфламацијских ћелија изражен по милилитру екседата. Анализом цитоспин препарата запажено је да у оба соја мишева доминирају макрофаги, а затим неутрофилни гранулоцити. Процентуалне вредности циновских макрофага ($15.2 \pm 3.9\%$) у $Mif^{-/-}$ мишева су биле статистички значајно веће у односу на контролни дивљи сој ($2.2 \pm 0.5\%$).

Апоптоза инфламацијских ћелија у *Mif*^{-/-} мишева је повећана у односу на контролни дивљи сој. Показан је већи проценат апоптозе, како неутрофилних гранулоцита тако и макрофага у *Mif*^{-/-} мишева у односу на *Mif*^{+/+} мишеве. Када је у питању продукција NO у ексудату, показан је статистички значајно нижи ниво NO₂ у ексудату *Mif*^{-/-} мишева у односу на контролни сој мишева.

У *Mif*^{-/-} мишева нивои IL-1β (1329±69.58 pg/ml) су били статистички значајно нижи у односу на вредности овог цитокина у ексудату дивљег соја мишева (1715±160.2 pg/ml), и то смањење је било изразитије него у раној фази инфламације. Међутим, супротно резултатима добијених у раној фази, вредности IL-1RA су код *Mif*^{-/-} мишева (9275±871.4 pg/ml), биле статистички значајно веће у односу на вредности код дивљег соја мишева (7827±924.2 pg/ml). С друге стране, вредности TNF-α, се нису статистички значајно разликовале. Концентрације IL-12, су супротно резултатима у раној фази инфламације биле статистички значајно веће у *Mif*^{-/-} мишева (240.2±5.29 pg/ml), у односу на дивљи сој (213,7±13,22 pg/ml). Вредности IFN-γ (57.39±10.32 pg/ml) код *Mif*^{-/-} мишева и (60.88±7.29 pg/ml) код *Mif*^{+/+} мишева нису биле статистички значајне. Слично као у раној фази инфламације, концентрације IL-33 у ексудату *Mif*^{-/-} мишева су биле статистички значајно веће (348.8±17.01 pg/ml) у односу на дивљи сој (263.0±64.69 pg/ml). Међутим, концентрације GM-CSF-а се нису статистички значајно разликовале између испитиваних сојева мишева. Слично резултатима добијених у раној фази инфламације, нису уочене статистички значајне разлике у нивоима IL-17. Међутим, за разлику од ране фазе, вредности концентрација CXCL-10 у *Mif*^{-/-} мишева (1078±91.67 pg/ml) су биле изразито ниже у односу на *Mif*^{+/+} мишеве (2638±1017 pg/ml). Такође су и вредности CRP у *Mif*^{-/-} мишева биле ниже у поређењу са вредностима у дивљег соја.

Као и у раној фази, адхезија инфламацијских ћелија у *Mif*^{-/-} мишева у култури је била статистички значајно већа у односу на инфламацијске ћелије изоловане из сунђера контролних *Mif*^{+/+} мишева. Такође, стимулација инфламацијских ћелија са PMA је довела до повећане адхезивности инфламацијских ћелија код оба соја, али је адхезија ћелија у мишева са делецијом *Mif* гена и даље била већа него код дивљег соја мишева. Концентрација NO₂ у супернатантима култура је била статистички значајно нижа у ексудату *Mif*^{-/-} мишева. Додавање LPS-а није битније утицало на концентрацију NO₂ у култури ћелија *Mif*^{+/+} мишева, али је довело до повећања концентрације NO₂ у култури ћелија *Mif*^{-/-} мишева у односу на нестимулисаних ћелије. Слично као у раној фази, нису уочене статистички значајне разлике у продукцији NO између стимулираних култура *Mif*^{-/-} и *Mif*^{+/+} мишева.

Дискусија је написана на 14 страна. У овом сегменту је кандидаткиња критички анализирала добијене резултате уз уверљиво упоређивање са резултатима из литературе. Дискусија је свеобухватна и јасно написана. Кандидаткиња системично дискутује сваку целину уз јасна тумачења сопствених резултата и извођење адекватних закључака.

Кључни резултати овог истраживања показују да је у *Mif*^{-/-} мишева инфламацијска реакција након субкутане имплантације поливинилских сунђера смањена, што је у сагласности са резултатима који су добијени на другим моделима инфламације и који заједно потврђују важну улогу MIF-а у стимулацији запаљенских процеса. У примењеном експерименталном моделу на *Mif*^{-/-} мишевима инцијална миграција моноцита у имплантирани сунђер није била знатно промењена, на основу чега се може претпоставити да MIF није од кључног значаја за рану миграцију моноцита, али је значајан за касну фазу инфламације у којој је код *Mif*^{-/-} мишева нађено изразито смањење како броја неутрофила тако и броја макрофага. Један од значајних налаза у овом истраживању се односи на повећање броја циновских макрофага у мишева са делецијом *Mif* гена.

Такође, кандидаткиња је показала, у примењеном експерименталном моделу, смањени ниво нитрита, као параметра продукције NO, у мишева са делецијом *Mif* гена. Смањење је било статистички значајно како у ексудату тако и у култури и то у обе фазе инфламације. Нижу укупну продукцију NO у раној фази, у односу на касну фазу, је објаснила мањом синтезом NO од стране неутрофилних гранулоцита (рана фаза) у односу на макрофаге који преобладају у касној фази инфламације.

На основу својих резултата и познатих литературних података, кандидаткиња је истакла да је нестерилна инфламација у *Mif*^{-/-} мишева смањена у односу на инфламацију у контролног дивљег соја (*Mif*^{+/+}) мишева. Овај закључак је засновала на смањеној миграцији инфламацијских ћелија и њиховој повећаној апоптози, смањеној продукцији NO и инфламацијских цитокина (IL-1β, TNF-α, GM-CSF-а и CXCL10) и Th1 цитокина (IL-12 и IFN-γ), а повећаној продукцији анти-инфламацијског цитокина (IL-1Ra) и IL-33 (citoкина који стимулише Th2 одговор). Такође, она истиче да је динамика промена испитиваних параметара различита у зависности од фазе инфламације и није увек у сагласности са очекиваним феноменом и у складу са постављеним хипотезама.

Преминација анти-инфламацијских медијатора код *Mif*^{-/-} мишева, праћена смањеном мобилизацијом инфламацијских ћелија у повређено ткиво и повећањем њихове апоптозе, могу деловати повољно на бржу резолуцију инфламације.

Добијени резултати отварају пут будућим истраживањима чији би циљ био даље испитивање молекуларних

механизма, коришћењем блокирајућих анти-MIF антитета или инхибитора синтезе/дејства MIF-а у циљу провере да ли су описани феномени карактеристични и специфични само за модел нестерилне хроничне инфламације или имају универзални биолошки значај.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01. јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

Zunic, G., Supic, G., Magic, Z., Draskovic, B., Vasiljevska, M. Increased nitric oxide formation followed by increased arginase activity induces relative lack of arginine at the wound site and alters whole nutritional status in rats almost within the early healing period. *Nitric Oxide*, Vol. 20: 253-258.

Vasiljevska M, Vučević D, Božić B, Jovanović I, Mihajlović D, Čolić M. Characteristics of the acute inflammatory reaction in macrophage migration inhibitory factor deficient (MIF^{-/-}) mice. *Vojnosanitetski pregled*. рад предат на рецензију

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

1. Код *Mif*^{-/-} мишева је смањено локално накупљање инфламацијских ћелија (неутрофилних гранулоцита у раној фази инфламације; неутрофилних гранулоцита и макрофага у касној фази инфламације). Овај налаз није повезан са бројем неутрофила и моноцита у периферној крви већ вероватно са смањеном хемотаксом ових ћелија.
2. Код *Mif*^{-/-} мишева је смањена апоптоза неутрофилних гранулоцита у ексудату у раној фази инфламације, а повећана апоптоза неутрофилних гранулоцита у касној фази инфламације.
3. Касна фаза инфламације код *Mif*^{-/-} мишева је праћена повећањем броја циновских, мултиједарних макрофага.
4. Инфламацијске ћелије *Mif*^{-/-} мишева имају већу спонтану и PMA-индуковану адхезивност за пластику а мању спонтану и LPS-ом индуковану продукцију NO у култури.
5. Инфламацијске ћелије *Mif*^{-/-} мишева мају већу спонтану али не и LPS-ом индуковану апоптозу у култури.
6. Рану фазу инфламације код *Mif*^{-/-} мишева карактерише смањена продукција IL-1 β , IL-1Ra, IL-12, IFN- γ , а повећана продукција IL-33 и GM-CSF-а.
7. Касну фазу инфламације код *Mif*^{-/-} мишева карактерише смањена продукција IL-1 β , TNF- α и CXCL10, а повећана продукција IL-12, IL-33, IL-1Ra и CRP.
8. Преминација анти-инфламацијских медијатора код *Mif*^{-/-} мишева, праћена смањеном мобилизацијом инфламацијских ћелија у повређено ткиво и повећањем њихове апоптозе, могу деловати повољно на бржу резолуцију инфламације.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Резултати су јасно и прегледно приказани, поткрепљени графичким приказима, табелом и сликама који олакшавају праћење текста. Сви графикони су стилски уједначени, уз одговарајућу анализу статистичке значајности и омогућавају читаоцу дисертације да лако сагледа добијене резултате. Интерпретација резултата је стручна и у складу са добијеним вредностима. Тумачење резултата је студиозно, објективно, аргументовано и детаљно уз поређења са резултатима других истраживања из ове области на истим или сличним моделима истраживања. Закључци су адекватни, научно оправдани и логично произилазе из добијених резултата рада, што указује да кандидаткиња добро познаје тематику дисертације. Коришћена литература је адекватна, савремена и може се закључити да су размотрени сви актуелни ставови и сазнања из области која је предмет ове докторске дисертације.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Докторска дисертација је написана у складу са образложењем које је кандидаткиња доставила приликом пријаве теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Докторска дисертација садржи све битне елементе научно-истраживачког рада.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Докторска дисертација „Карактеристике акутне запаљенске реакције мишева са уклоњеним геном за макрофагни инхибиторни фактор“ по својој свеобухватности, добијеним резултатима и изнетим закључцима представља оригинални научни рад. Иако се генерално може тврдити да је MIF контролор системске инфламације, а упркос бројним истраживањима, улога MIF-а у процесу запаљења није довољно истражена. Најбољи начин да се то уради је коришћење погодних модела запаљења на мишевима којима је извршена делеција гена за MIF. Модел инфламације који се базира на субкутаној имплантацији поливинилских сунђера, омогућава да се у ексудату сунђера анализирају не само инфламаторне ћелије, већ и биомолекули који се на месту запаљења продукују. Истраживања спроведена у овој студији представљају оригинални научни приступ који до сада није коришћен у литератури. Њима је показано да је повреда ткива по типу хроничне грануломатозне инфламације код *Mif* мишева праћена преминацијом анти-инфламацијских медијатора, смањеном мобилизацијом инфламацијских ћелија у повређено ткиво и повећањем њихове апоптозе што може утицати на стимулацију резолуције инфламације. Резултати смањене апоптозе неутрофилних гранулоцита *in vivo* у продукцији про-инфламацијских и анти-инфламацијских цитокина у *Mif* мишева су неочекивани и оригинално уочен феномен који до сада није објављен у литератури. Добијени налази отворају пут за даља истраживања којима би се показало да ли су описани феномени карактеристични и специфични само за модел нестерилне хроничне инфламације или имају универзални биолошки значај.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Детаљним увидом Комисија није уочила недостатке који би, евентуално утицали на резултате истраживања у току израде докторске дисертације.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

- **да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана**

Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације под називом „Карактеристике акутне запаљенске реакције мишева са уклоњеним геном за макрофагни инхибиторни фактор“ Милијане Васиљевске, Комисија предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета и Сенату Универзитета у Новом Саду да прихвати, стави у даљи поступак, а кандидаткињи одобри одбрану докторске дисертације.

**НАВЕСТИ ИМЕ И ЗВАЊЕ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ
ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ**

**др Бранислава Белић, редовни професор,
Пољопривредни факултет Нови Сад, департман за ветеринарску медицину**

**др Марко Цинцовић, доцент,
Пољопривредни факултет Нови Сад, департман за ветеринарску медицину**

**Академик Миодраг Чолић, професор емеритус,
Универзитет одбране у Београду**

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај.