

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ПРЕДМЕТ:
ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ О ОЦЕНИ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На седници Наставно-научног већа Факултета медицинских наука у Крагујевцу, одржаној дана 16.04. 2014. године, одлуком 01-3924/3-10 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом:

ПРОИНФЛАМАТОРНИ И РЕГУЛАТОРНИ МЕДИЈАТОРИ У
ПСЕУДОЕКСФОЛИЈАТИВНОМ СИНДРОМУ

кандидата Татјана С. Шаренац Вуловић , у следећем саставу:

1. Проф. др Светислав Миленковић, председник, редовни професор Медицинског факултета у Београду, за ужу научну област Офталмологија,
2. Проф. др Мирјана Јанићијевић Петровић, члан, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Офталмологија,
3. Доц. др Слађана Павловић, члан, доцент Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидата Татјана С. Шаренац Вуловић, и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

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

Докторска дисертација кандидата Татјане С. Шаренац Вуловић под називом „Проинфламаторни и регулаторни медијатори у псеудоексфолијативном синдрому” представља оригиналну студију која се бавила испитивањем нивоа проинфламаторних и регулаторних медијатора у процесу настанка псеудоексфолијација у условима оксидативног стреса, који је доказан концентрацијом аскорбинске киселине и азот-моноксида. На основу добијених резултата направљена је и претпоставка могућег следа активности различитих медијатора у овом сложенем процесу, кроз различите фазе испољавања псеудоексфолијација у оку.

Псеудоексфолијације (ПЕХ) су честа окуларна манифестација системског обољења и један од најчешћих узрока глаукома у свету. Псеудоексфолијативни синдром је клинички значајан поремећај организма ког карактерише промена екстрацелуларног матрикса са патолошким накупљањем фибриларног материјала у различитим интра и екстраћелијским ткивима организма (плућа, јетра, срце, бубрег, жучна кеса, крвни судови, можданице, око, екстраокуларни мишићи). Псеудоексфолијативни глауком настаје у оку у коме је дошло до хемодинамских поремећаја услед присуства ПЕХ и поремећеног протока крви у крвним судовима ретине. Претпоставља се да око 70 милиона људи у свету има ПЕХ. Од тога 0,25% има повишен интраокуларни притисак, од чега трећина има развијену форму глаукома. Велики број пацијената има недијагностикован ПЕХ или погрешно дијагностикован, тако да се претпоставља да је број особа са ПЕХ знатно већи. Псеудоексфолијације се ретко срећу код особа млађих од 40 година, а најчешће се срећу код особа преко 60 година старости. Псеудоексфолијативни синдром је значајан и због системске манифестације, коју карактеришу цереброваскуларне и кардиоваскуларне промене .

Индиректна хистохемијска и имунохистохемијска испитивања су показала да се у основи ПЕХ налазе гликопротеини, тј. протеоглици. У средишту микрофибриле се налази протеин који је окружен различитим гликокоњугатима (хепаран сулфат протеогликан, хондроитин сулфат протеогликан, дерматан сулфат протеогликан, кератан сулфат протеогликан, хијалуронан). Протеинска компонента у основи има неколагену базалну мембрану (ламинин, нидоген, фибронектин) са епитопима еластичних фибрила (еластин, тропоеластин, амилоид П, витронектин, фибронектин) и компонентама еластичних микрофибрила (фибрилин-1, микрофибрил везани протеин- MAP-1, латентни TGF- β везујући протеин- LTBP 1 / 2). Последња имунохистохемијска испитивања су показала повећану експресију фибрина-1 и LTBP-1/2 mRNA у свим ћелијама које су укључене у стварање псеудоексфолијација дајући подршку еластичној микрофибриларној основи патогенезе. Постоји и низ других протеинских молекула који су укључени у настанак псеудоексфолијација, а то су: унакрсно везујући ензими-чаперони, аполипопротеини, протеолитички ензими и њихови инхибитори, цитокини, као што је TGF- β . Оводенко и сарадници су користећи течну хроматографију са спектрометријом дали коначну верзију грађе псеудоексфолијативних микрофибрила: базална мембрана од ламинина, фибронектина, верзикана, синдекана-3, металопротеиназа ADAM фамилије, чаперона- кластерин и комплемент фактора C1q; друге компоненте микрофибриларних влакана као фибрилилин-1, фибулин-2, витронектин, компоненте амилоид P. Са обзиром да псеудоексфолијације садрже доста компоненти еластичног фибриларног система, њихова појава у организму се назива еластозом.

На основу биохемијске грађе ПЕХ, услова који постоје у оку са ПЕХ, претпоставља се да следећи фактори могу да стимулишу стварања ПЕХ материјала: оксидативни стрес и запаљење. Постоје подаци у литератури о повећању концентрације TGF- β 1 у очној водици и серуму болесника са ПЕХ синдромом. TGF- β 1 је важан медијатор у стварању ПЕХ материјала, кога стварају ћелије предњег сегмента ока, који регулише и активност гена за синтезу фибрина- 1, LTBP- 1 и - 2, тропоеластина, кластерина, LOXL 1и др. TGF- β 1 се везује преко LTBP-1 и 2 за ПЕХ, али и за LOXL 1, повећавајући стварање ПЕХ. Проинфламаторни цитокин IL-6 има повећане вредности у раној фази ПЕХ синдрома, што указује на благу

инфламаторну реакцију на месту настанка ПЕХ. Оксидативни стрес у оку, тј. стање хипоксије регулише експресију LOXL-1, као и синтезу молекула матрикса- еластина и фибрина. Неколико студија је дало резултате у којима је показано да смањена антиоксидативна заштита и повећан оксидативни стрес имају улогу у настанку ПЕХ. Оксидативни стрес у оку је доказан преко смањеног нивоа важних антиоксидативних компоненти, као што су: аскорбинска киселина, глутатион; уз повећање фактора оксидативног стреса: 8- изопростагландин F2 α и малондиалдехид. Смањен проток крви у крвним судовима дужице повећава хипоксију у предњој очној комори, што је показано флуоресцеинском и индоцијанингрин ангиографијом крвних судова дужице. Повећан ниво ендотелина- 1 и хомоцистеина повећава хипоксију. Код болесника са ПЕХ је показан и смањен ниво активности антиоксидативних механизма уз измењену активност заштитних гена, који регулишу синтезу глутатион-Ц-трансферазе, убиквитин- коњугованог ензима, ДНК поправљајућих ензима, стресом индукованих транскрипционих фактора. Познато је да TGF- β 1 повећава синтезу ендотелина-1, што поспешује стварање слободних радикала. Али слободни радикали настали под дејством ултраљубичастиг зрачења додатно повећавају синтезу TGF- β 1 (адитивни ефекат) и стимулишу активност матриксних металопроотеиназа (ММП-2, ММП-9). Зато, за ПЕХ синдром/глауком можемо да кажемо да је специфичан облик стресом изазване еластоze; еластична микрофибрилопатија повезана са повећаним стварањем и агрегацијом еластичних микрофибрила, унакрсно повезивање фибрила које укључује активност LOXL- 1, повећан ниво TGF- β 1, протеолитичку неравнотежу ММП и TIMP, повећан оксидативни стрес и смањен ћелијски одговор на хипоксију.

Прогресивно накупљање ПЕХ материјала у одводне путеве очне водице доводи до повећања интраокуларног притиска (ИОП). Постоји корелација измеђи висине ИОП и оштећења главе очног живца и количине ПЕХ материјала у одводним путевима очне водице.

Нагомилавање ПЕХ материјала у јукстаканаликуларном делу коморног угла је повезано са сужавањем и фокалним колапсом лумена Шлемовог канала уз колапс лумена венских крвних судова, који настаје на сличан начин. Смањена функција фосфолипазе А2, која је значајна за ремоделирање и отклањање оксидисаних фосфолипида из ћелијске мембране, у трабекуларној мрежи доводи до повећане

осетљивости на оксидативни стрес и настанак за глауком карактеристичних промена- повећан отпор отицању очне водике из предњег сегмента ока.

Настанак фиброзног ткива у организму се састоји из три фазе: фаза оштећења ткива, фаза запаљења у ткиву и фаза репарације ткива. За започињање процеса неопходно је дејство узрока на ткиво, који може да буде различите природе: микроорганизми, УВ зрачење, траума, хипоксија и др. Под дејством узрока долази до оштећења ткива, тј. нарушавања равнотеже у ткиву. Настало стање се одражава на промену функције ендотела, из кога се ослобађају медијатори, са улогом привлачења запаљенских ћелија на место оштећења, враћање нормалне функције ендотела уз активирање ткивних металопроотеиназа. Антифибринолитичка коагулациона каскада има улогу у регулисању функције ендотела и то преко активности тромбоцита, који се налазе на месту пропуштања, као и формирање коагулума и активности тромбина, који учествује у процесу диференцијације фибробласта у миофибробласте. Накупљање и дегранулација тромбоцита уз формирање тромбова доводи до ослобађања медијатора који изазивају вазодилатацију и повећану пермеабилност. Базална мембрана представља препреку за прелазак ћелија и биохемијски активних супстанци из оштећеног ткива. Металопроотеиназе (ММП) разлажу поједине структуре екстрацелуларног матрикса што омогућава екстравазацију ћелија. У другој фази постоји миграција запаљенских ћелија на место оштећења ткива под дејством различитих проинфламаторних цитоткина и хемокина. Ослобођени IL-8 делује на хемотаксу неутрофила, еозинофила, лимфоцита. Долази и до ослобађања TGF- β и IL-13 који регулишу активност у самом ткиву. У зависности од типа Th ћелија и њихових цитоткина, разликујемо Th1, Th2 и Th17 тип ћелијског одговора, или њихове комбинације. Под дејством цитоткина, тј. CTGF уз присуство EGF и IGF долази до пролиферације фибробласта и њихове диференцијације у миофибробласте, који учествују у процесу формирања фиброзног ткива. Услед поремећаја циркулације у ткиву долази до ослобађања и ангиогенетских фактора из групе хемокина, али и синтезе ангиостатских фактора. У трећој фази долази до депоновања фиброзних влакана у ткиву, са циљем да се врати ткиво у стање равнотеже. Депоновано фиброзно ткиво мења архитектонику ткива уз следствену промену функције.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Прегледом литературе и увидом у биомедицинске базе података "Medline" и "CoBSON" помоћу следећих кључних речи: "pseudoexfoliation", "cytokine", "oxidative stress", "nitric oxide", "ascorbic acid", "proinflammation cytokine", утврђено је да до сада није спроведена студија, у којој је испитиван утицај проинфламаторних и регулаторних цитокина, која је по форми и садржини идентична овој студији. На основу тога, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Татјане С. Шаренац Вуловић, под називом „Проинфламаторни и регулаторни медијатори у псеудоексфолијативном синдрому”, урађена под менторством Доц.др Немање С. Здравковића, представља резултат оригиналног научног рада који доприноси разумевању комплексне патогенезе псеудоексфолијација у оку и расветљава могуће механизме настанка глаукома изазваног таложењем псеудоексфолијација, који представља крајњи облик болести.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

A. Лични подаци

Др Татјана Шаренац Вуловић

Завршила је ОШ „Радоје Домановић“ у Крагујевцу, као носилац Вукове дипломе, а средње образовање је стекла у I Крагујевачкој Гимназији, као одличан ученик. Медицински факултет у Крагујевцу је уписала 1992/93. год., а завршила у октобру 1998.год., са просечном оценом 9.74. У току студија је радила као студент демонстратор на предмету анатомија, у трајању од 3 године. За време студија је проглашавана за најбољег студента на Медицинском факултету и на Универзитету у Крагујевцу. Проглашена је за студента генерације 1998.год. По завршеном факултету је радила као стручни сарадник на офталмологији, у трајању од годину дана. Волонтерску специјализацију из офталмологије је уписала 01.04.2000.год. У стални радни однос на Очно одељење, КБЦ Крагујевац, је

примљена 01.10.2001. год. Специјалистички испит из офталмологије је положила 21.12.2005. год на Медицинском факултету у Београду, са одличном оценом. Завршила је школу ултразвука на Медицинском факултету у Београду, а прошла је и едукацију за савремену хирургију катаракте, којом се и бави. На завршној је години постдипломских докторских студија Медицинског факултета у Крагујевцу, на смеру Имунологија. Објављивала је радове, као специјализант и специјалиста на стручним састанцима, и домаћим и страним часописима.

Б. Научно истраживачки рад

Још у току редовних студија кандидат Татјана С. Шаренац Вуловић је учествовала у научно-истраживачком раду. У току специјализантског и специјалистичког стажа учествовала је набројним стручним конгресима у земљи и иностранству. Била је члан пројекта Alcon- CRF- Internal, number CM-04-02, v 1. Feb. 2004- 2010. Travatan- S.T. A.R.T., Study of Travatan as Replacement Therapy. Number of study 47/2010/4000. Registered Trademark of Alcon Laboratories, Inc.Allergan, Inc Merch, Inc Pharmacia, Upjoh.

В. Подаци о објављеним радовима

Кандидат Татјана С. Шаренац Вуловић је остварила 45 бодова по основу радова објављених у целини у међународним или домаћим часописима, бодованих према члану 177. Статута факултета:

Научни радови објављени у целини у часописима међународног значаја (категорија М20):

1. Sreckovic S, Janicijevic- Petrovic M, Stefanovic I, Petrovic N, **Sarenac T**, Paunovic S. Bilateral retinal detachment in a case of preeclampsia. Bosn J Basic Med Sci. 2011; 11(2): 129- 131. **М23- 3 бода**

2. Janićijević-Petrović MA, **Šarenac T**, Srećković S, Janićijević K, Petrović M, Vulović D. Clinical evaluation of Graves ophthalmopathy Srp Arh Celok Lek. 2012 ; 140(11-12): 694-698. **M23- 3 бода**

3. Petrović MJ, **Sarenac T**, Srećković S, Petrović M, Vulović D, Janićijević K. Evaluation of the patients with Grave's ophthalmopathy after the corticosteroids treatment. Vojnosanit Pregl. 2012; 69(3): 249-252. **M23- 3 бода**

4. Janićijević-Petrović MA, Srećković S, Petrović N, Sarenac T. Epidemic keratoconjunctivitis. Srp Arh Celok Lek. 2011; 139(5-6): 282-285. **M23- 3 бода**

5. Janicijevic-Petrovic M, **Sarenac T**, Sreckovic S, Vulovic D, Janicijevic K. Orbital metastases from breast cancer: a case report. Bosn J Basic Med Sci. 2011; 11(4): 253-255. **M23-3 бода**

6. Vulović D, Novaković M, **Sarenac T**, Janićijević-Petrović M, Petrović N, Srećković S, Milićević S, Piscević B. Congenital upper eyelid coloboma with ipsilateral eyebrow hypoplasia. Vojnosanit Pregl. 2012;69(9): 809-811. **M23-3 бода**

7. Janićijević-Petrović MA, **Sarenac T**, Petrović M, Vulović D, Janićijević K. Cyclocryotherapy in neovascular glaucoma treatment. Med Glas (Zenica). 2012; 9(1): 106-109. **M23-3 бода**

8. **Sarenac TS**, Janicijevic-Petrovic MA, Sreckovic SB, Radovanovic MR, Vulovic DD, Janicijevic KM. Prostatic carcinoma bilateral iris metastases. Bosn J Basic Med Sci. 2012; 12(2): 134-136. **M23-3 бода**

9. Srećković S, Janićijević Petrović M, Jovanović S, Paunović S, **Sarenac T**. Traumatic anterior dislocation of the crystalline lens and its surgical management. Med Glas (Zenica). 2012; 9(1): 123-125. **M23-3 бода**

10. Paunović S, Janićijević Petrović M, Paunović M, Srećković S, Petrović N, **Sarenac T**. Panophthalmitis after spontaneous perforation in glaucomatous eye. Med Glas (Zenica). 2012; 9(2): 432-434. **M23-3 бода**

11. Janicijevic Petrovic M, **Sarenac Vulovic T**, Janicijevic K, Petrovic M, Vujic D, Vulovic D. Cataract surgery in patients with ocular pseudoexfoliation. Annali Italiani Chirurgici 919, 2144

Online, publisher online 28 June 2013, pii:S0003469X13021441 (www.annitalchir.com). Ann. Ital. Chir 2013; 84: 611-615. **M23-3 бода**

12. Janićijević-Petrović MA, **Šarenac-Vulović TS**, Janićijević KM, Vulović DD, Popović AB, Vujić DI. Evaluation of central corneal thickness in patients with ocular hypertension and primary open-angle glaucoma. Med Glas (Zenica). 2014; 11(1): 115-119. **M23-3 бода**

Научни радови објављени у целини у часописима националног значаја (категорија M50):

1. **Шаренац Т.** Савремени принципи лечења дијабетске ретинопатије. Медицински часопис. 2011; 45: 145-146. **M52- 1,5 бодова**
2. Мирјана А. Јанићијевић-Петровић, **Татјана С. Шаренац-Вуловић**, Катарина М. Јанићијевић, Дејан Д. Вуловић. Лечење ретробулбарног неуритиса у склопу мултипле склерозе кортикостероидима и интерфероном $\beta 1b$. Понс Мед Ј 2012; 10(1): 12-16. **M53-1 бод**
3. Зоран Ковачевић, Мирјана Јанићијевић-Петровић, **Татјана Шаренац**, Виолета Младеновић, Томислав Стојиљковић. Acute intermittent Porphyria. Понс Мед Ј. 2012; 9 (3): 110-113. **M53-1 бод**
4. **Татјана С. Шаренац-Вуловић**, Дејан Д.Вуловић, Мирјана А. Јанићијевић-Петровић, Светлана Пауновић, Катарина М. Јанићијевић. Оклузија ретиналне артерије код труднице. Понс Мед Ј 2013; 10(2): 61-63. **M53-1 бод**
5. Јанићијевић-Петровић Мирјана, Вељковић Б, Јанићијевић К, **Шаренац-Вуловић Т.** Повезаност метаболичке регулације код оболелих од шећерне болести са променама на очном дну. Med Pregl 2014; LXVII (1-2): 49-54. **M51-2 бода**
6. Јанићијевић-Петровић Мирјана, Јанићијевић Катарина, **Шаренац-Вуловић Татјана**, Поповић Андријана. Грејвсова болест и орбитална декомпресија - приказ случаја. Тимочки Медицински Гласник 2013; 38(4): 210-13. **M53-1 бод**

7. **Tatjana S. Šarenac Vulović**, Mirjana A. Janićijević-Petrović, Dejan D. Vulović, Slađana M. Pavlović, Slađana Simović and Nemanja S. Zdravković. Systemic manifestations of the pseudoexfoliation. **Serbian Journal of Experimental and Clinical Research** 2014;15(1): 29-32.
- M52-1,5 бод**

Научни радови саопштени на научним скуповима међународног значаја (категорија М30):

Научни радови саопштени на научним скуповима националног значаја (категорија М60):

У оквиру КМЕ Медицинског факултета у Крагујевцу и Клинике за офталмологију КЦ Крагујевац држала је два предавања и то:

1. Заштита додирне површине ока офталмолошком политерапијом- 26.03.2011
2. Профилакса енд офталмитиса- 07.05.2011.
3. Малигни меланом- 10.11.2012.

У оквиру учешћа на конгресима од националног и међународног значаја, била је предавач на курсу: Алергија и око- Конгрес офталмолога Србије- Београд, 2012; као и предавач по позиву на Конгресу офталмолога Босне и Херцеговине- Бања Лука, мај 2012, са предавањем „Давање интравитреалних инјекција“.

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

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Циљеви истраживања идентични су са одобреним у пријави тезе.

Докторска дисертација кандидата Татјане С. Шаренац Вуловић под називом „Проинфламаторни и регулаторни медијатори у псеудоексфолијативном синдрому” садржи

следећа поглавља: Увод, Циљеви истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература.

У уводном делу кандидат је јасно, прецизно и свеобухватно, користећи најсавременије литературне податке, изложио досадашња сазнања о биохемијској грађи, генетској основи, патогенези, клиничкој манифестацији, али и основним карактеристикама оксидативног стреса у читавом организму и оку, са посебним освртом на улогу инфламације у настанку псеудоексфолијација. Разматрана је улога различитих медијатора инфламације у процесу настанка псеудоексфолијација. На основу биохемијске грађе псеудоексфолијативног материјала и на основу досадашњих испитивања поставила се хипотеза да се у основи синтезе псеудоексфолијација налази запаљење са последичном активацијом процеса стварања фиброзових фибрила.

У другом поглављу јасно су изложени основни и специфични циљеви истраживања. Генерални циљ ове студије је да се утврди имунопатологија псеудоексфолијативног синдрома/глаукома. У складу са овим општим циљем поставили смо и следеће специфичне циљеве: 1. Испитати утицај фактора оксидативног стреса у оку на развој патофизиолошког процеса у псеудоексфолијативном синдрому/глаукому; 2. Утврдити улогу проинфламаторних цитокина у развоју псеудоексфолијативног синдрома/глаукома; 3. Испитати улогу регулаторних медијатора у спречавању настанка ангиогенезе код псеудоексфолијативног синдрома/глаукома. Такође, дефинисане су и две радне хипотезе: а) Проинфламаторни цитокини и хипоксија индукују процес стварања псеудоексфолијација код оболелих од псеудоексфолијативног синдрома/глаукома; б) Регулаторни медијатори спречавају настанак ангиогенезе код псеудоексфолијативног синдрома/глаукома.

Материјал и методологија рада подударни су са наведеним у пријави дисертације и презентовани на одговарајући начин. Студија је обухватила 120 испитаника подељених у четири групе, са дијагнозом старачке скраме, који су хоспитализовани на Клиници за офталмологију Клиничког центра Крагујевац. Испитивање је вршено у периоду од 01. 03. 2011. до 31.12.2011.године. После детаљно урађеног клиничког прегледа (одређивање оштрине вида, мерење интраокуларног притиска, гониоскопију, преглед биомикроскопом при артефицијалној мидријази, мерење ширине зеничног отвора пре и за време операције, преглед на биомикроскопу, преглед очног дна индиректном методом- лупом јачине 90 диоптрија) болесници су подвргнути хируршкој интервенцији операције замућеног сочива методом факоемулзификације. Испитаници су подељени у четири групе на основу

присуства псеудоексфолијација (ПЕХ). Присуство псеудоексфолијација у оку је градуисано на основу клиничког прегледа болесника биомикроскопом у мидријази на три клиничка ентитета (групе): рана фаза ПЕХ синдрома, касна фаза ПЕХ синдрома, ПЕХ глауком. Док четврту, контролну групу чине болесници који имају сенилну катаракту, без присуства ПЕХ-а. Из испитивања су били искључени болесници млађи од 45 година или су имали придружену: кратковидост, претходно запаљење судовњаче, шећерну болест, повреду ока или јатрогену катаракту (кортикостероиди и др). Узорак очне водиче је узиман на почетку хируршке интервенције парацентезом и иглом је у инсулинску бризгалицу аспирирано, око 0,2 ml очне водиче. Непосредно после узимања, узорци очне водиче су замрзнути на -20°C , а потом до испитивања су чувани на -80°C . Узорак крви болесника (ml) је узиман на пријему по протоколима добре лекарске праксе. Узорци крви су центрифугирани 10 минута на 3000 rpm и чувани на -20°C до даљег испитивања. Одређивање коцентрације азот-моноксида у очној водичи и серуму болесника се вршило по методи коју је описао Грин и сарадници, док је концентрација аскорбинске киселине одређивана методом коју су описали Рутковски и сарадници. Одређивање нивоа одабраних цитокина (TNF- α , IL-6, IL-17, TGF- β , PDGF, EGF, IGF, IL-8 и ITAC), вршено је коришћењем ензимоимунотест кита (ELISA од енг. Enzyme - linked immunosorbent assay; R&D Systems Minneapolis, MN) специфичног за хумане цитокине, уз сагласност са написаним протоколом. Стандард као и сви узорци су урађени у трипликату.

Резултати истраживања су приказани систематично и добро документовани. Приказаним резултатима је документовано да се псеудоексфолијације срећу у каснијој животној доби и да је степен испољавања псеудоексфолијација у директној поовезаности са старошћу болесника (старији болесници чешће оболевају од псеудоексфолијативног глаукома), као и да је чеши код припадника женског пола. Приказано је да су псеудоексфолијације углавном билатералне у ПЕХ глаукому, а да се у ПЕХ синдрому среће и монолатерална манифестација. Такође је показано да постоје извесна кардиоваскуларна и цереброваскуларна обољења која су у непосредној повезаности са присуством псеудоексфолијација у оку, као и већи степен оштећења слуха. Установљено је и да је присуство псеудоексфолијација у оку повезано са већим степеном тврдоће нуклеуса сочива, као и са зрелим облицима старачке скраме. Са обзиром да су испитаници подвргнути хируршкој интервенцији операције скраме, значајно је било и праћење ширине зенице испитаника. Дошли смо до податка да је шири зеница повезана са мањим степеном

испољавања псеудоексфолијација. Праћењем оксидативног статуса испитаника установљено је да је концентрација аскорбинске киселине у очној водици значајно смањена код болесника са ПЕХ глаукомом у односу на болеснике из контролне групе; док није уочена разлика у серумским концентрацијама у свим испитиваним групама. Такође, концентрација азот-моноксида је статички значајно повишена у очној водици болесника са ПЕХ глаукомом у поређењу са болесницима са раном и касном фазом ПЕХ синдрома и контролне групе, али и значајно повећање азот-моноксида у серуму болесника са раном фазом ПЕХ синдрома. Ниво проинфламаторних цитокина $TNF-\alpha$ и $IL-17$ у очној водици је повишен код болесника са ПЕХ синдромом (рана и касна фаза) и ПЕХ глаукомом, док је ниво $IL-6$ у очној водици повишен код болесника са раном фазом ПЕХ синдрома и болесника са ПЕХ глаукомом. Серумски ниво проинфламаторног цитокина $IL-6$ је повишен код болесника са раном и касном фазом ПЕХ синдрома, док нивои осталих нису показивали статистички значјане промене. Ниво регулаторног цитокина $TGF-\beta$ у очној водици је повишен код болесника са раном фазом ПЕХ синдрома, док је ниво $PDGF$ повишен у раној и касној фази ПЕХ синдрома. Код болесника са ПЕХ глаукомом је повишен ниво EGF , $IL-8$ и $ITAC$, а IGF је детектован код болесника са ПЕХ глаукомом. Повишен ниво $TGF-\beta$ покреће процес стварања фиброзног ткива у раној фази ПЕХ синдрома, уз активност $PDGF$, EGF и $IL-8$ у касној фази ПЕХ синдрома. Каснију улогу у том процесу преузимају $IL-8$ и $ITAC$, у фази развијеног глаукома.

У поглављу Дискусија анализирани су добијени резултати и поређени са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. Резултати су детаљно дискутовани у контексту утицаја оксидативног стреса на активацију запаљења у ткиву, уз повећану активност проинфламаторних ($TNF-\alpha$, $IL-6$, $IL-17$) и обавезну активацију регулаторних цитокина ($TGF-\beta$, $PDGF$, EGF , IGF , $IL-8$ и $ITAC$). Показано је да иако постоје хипоксични услови, нема видљивих новоформираних крвних судова, за шта је одговорно деловање хемокина $ITAC$.

Литература је адекватна по обиму и садржини. Наведени су, у међународним оквирима, најзначајнији оригинални и ревијски научни радови у овој области.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата Татјане С. Шаренац Вуловић под називом „Проинфламаторни и

регулаторни медијатори у псеудоексфолијативном синдрому”, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања су садржани у следећим закључцима:

1. Псеудоексфолијације су системско обољење које изазива стварање и акумулацију ПЕХ материјала у свим деловима ока, али и у зидовима крвних судова ока и читавог организма.
2. Псеудоексфолијативни синдром/глауком се чешће јавља у старијем животном добу код особа женског пола.
3. Болесници са ПЕХ синдромом/глаукомом чешће обољевају од исхемијске болести срца, анеуризме аорте, цереброваскуларних болести и имају сензонеурално оштећење слуха.
4. Псеудоексфолијације су у синдрому клинички чешће монолатерално, док је код развијене форме ПЕХ глаукома чешћа билатерална манифестација.
5. Нуклеарна, као и брунесцентна и зрела скрама су најчешће присутне код болесника са ПЕХ синдромом/глаукомом.
6. Степен мидријазе је у реципроцитету са степеном испољености ПЕХ, док је одржавање постигнуте мидријазе у обрнутом односу.
7. Концентрација аскорбинске киселине у очној водици се смањује са напредовањем процеса стварања ПЕХ материјала, што указује на поремећен антиоксидативни статус.
8. Концентрација азот-мооксида, као индикатора оксидативног стреса и запаљења, се повећава у серуму болесника са раном фазом ПЕХ синдрома и у очној водици болесника са ПЕХ глаукомом.
9. Проинфламаторни цитокини (TNF- α , IL-6 и IL-17) су кључни у започињању процеса стварања ПЕХ материјала. Нивои TNF- α и IL-17 су повишени у очној водици болесника са ПЕХ синдромом/глаукомом, док је IL-6 повишен локално у раној фази ПЕХ синдрома и у ПЕХ глаукому. Ниво IL-6 у серуму наших испитаника је био повишен код болесника са раном и касном фазом ПЕХ синдрома.
10. Регулаторни цитокини исказују локално активност TGF- β у раној фази ПЕХ синдрома, праћену појачаном активношћу PDGF, која се одржава и у касној фази ПЕХ синдрома.

У фази развијеног ПЕХ глаукома је повишен ниво EGF, IL-8 и ITAC, док IGF није детектован у фазама ПЕХ синдрома (рана и касна фаза), али је његова активност забележена у фази ПЕХ глаукома.

11. У серуму болесника са раном фазом ПЕХ синдрома је повишен TGF- β , да би у касној фази профибротичку улогу преузели PDGF, EGF и IL-8. Коначну улогу у фази ПЕХ глаукома имају IL-8 и ITAC.
12. Наши резултати указују да је настанак ПЕХ повезан са старијим животним добом, што обезбеђује нарушен оксидативни статус уз адитивни, хронични утицај различитих фактора спољашње средине. Поремећен оксидативни статус покреће Th1/Th17 инфламаторни одговор. Продукцијом проинфламаторних цитокина (TNF- α , IL-6 и IL-17) започињање процес стварања ПЕХ материјала, који карактерише рани ПЕХ синдром, где своју активност бележи и први регулаторни цитокин TGF- β , чијим дејством започиње фиброза ткива. У касном ПЕХ синдрому и ПЕХ глаукому, PDGF наставља процес фиброзе ткива. Дејством EGF и IGF настаје пролиферација и диференцијација фибробласта у миофибробласте, чији је задатак синтеза фиброзног ткива (псеудоексфолијација). Концентрација проинфламаторних цитокина (TNF- α и IL-17) се одржава на вишем нивоу у свим фазама болести, што указује на хроничан процес, а IL-6 је повишен у раном ПЕХ синдрому и ПЕХ глаукому, што је последица реакције трабекулама на механички стрес услед повишеног ИОП. IL-17 делујући на неутрофиле поспешује синтезу IL-8, који делује хемотактично, али и ангиогенетски. Клинички крвни судови нису уочљиви, а наши резултати показују да ITAC спречава њихов настанак. Фиброзно ткиво (ПЕХ) се таложи у све делове предњег сегмента ока и крвне судове. У зависности од степена таложења ПЕХ-а, настају различите псеудоексфолијативне промене (рана и касна фаза ПЕХ синдрома или ПЕХ глауком).

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Презентовани резултати истраживања дају оригинални и веома важан допринос разумевању значаја и утицаја оксидативног стреса у процесу стварања псеудоексфолијација уз развој различитог степена болести. Локално измењени услови (оксидативни стрес) доводи до активације синтезе проинфламаторних цитокина (TNF- α , IL-6 и IL-17), који

изазивају синтези профибротичких цитокина у ткиву, неопходних за активацију, диференцијацију и пролиферацију фибробласта (TGF- β , PDGF, EGF, IGF и IL-8). Активирани фибробласти стварају фиброзна влакна, који су саставни део псеудоексфолијација. Накупљени псеудоексфолијативни материјал у одводним путевима очне водице и крвним судовима који исхрањују око формирају основу што за развој глаукома. У будућности би било интересантно пронаћи *locus minoris* овог сложеног процеса, где би он могао да буде прекинут.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Докторска теза др Татјане Шаренац Вуловић по резултатима и начину како је написана, уз одређене модификације, препоручује се као научно штиво. Резултати до којих је кандидат дошао, у тексту дисертације су представљени јасно и систематично. Комисија сматра да се, пре свега захваљујући систематичности и поштовању узрочно-последичних веза, шематски прикази из дисертације могу користити и као материјал погодан за наставу на основним и докторским студијама у областима офталмологије и имунологије. Кандидат је део резултата докторске дисертације већ публиковао у *Ser J Exp Clin Res* (M52). Два рада су послата у међународне часописе, а нови резултати ће бити презентовани кроз неколико будућих публикација.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Татјане С. Шаренац Вуловић под називом „**Проинфламаторни и регулаторни медијатори у псеудоексфолијативном синдрому**” на основу свега наведеног оцењује да је истраживање у оквиру докторске дисертације утемељено на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно спроведено. Добијени резултати су прегледни, јасни и адекватно дискутовани.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Татјане С. Шаренац Вуловић урађена под менторством Доц. др Немање С. Здравковића има оригинални научни и практични значај у разумевању значаја и утицаја различитих роинфламаторних и регулаторних медијатора у процесу стварања псеудоексфолијација.

На основу свега изложеног Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом **„Проинфламторни и регулаторни медијатори у псеудоексфолијативном синдрому“** кандидата Татјане С. Шаренац Вуловић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Проф. др Светислав Миленковић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Офталмологија, председник

Проф. др Мирјана Јанићијевић Петровић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Офталмологија, члан

Доц. др Слађана Павловић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

Крагујевац, 12.05.2014. године