

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На IX редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду-Биолошког факултета, одржаној 13.07.2016. године, прихваћен је Извештај ментора проф др Марине Стаменковић-Радак и проф др Стеве Најмана о урађеној докторској дисертацији **Владимира Ј. Цветковића**, под насловом: **“Анализа ектопичног остеогеног потенцијала мезенхимских матичних ћелија белог масног ткива код миша на основу релативне експресије гена маркера остеогенезе”**, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Марина Стаменковић-Радак, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Стево Најман, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу и др Гордана Никчевић, научни саветник Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерство Универзитета у Београду. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација аутора Владимира Ј. Цветковића написана је на 159 страница (146 нумерисаних) и садржи 36 слика и 15 табела. Уводне нумерисане стране састоје се из: насловне стране на српском и енглеском, страна са информацијама о менторима и члановима комисије, захвалница, сажетак на српском и енглеском (са кључним речима) и садржај. Текст докторске дисертације чине следећа поглавља: Увод (24 стране), Предмет и циљ истраживања (2 стране), Материјал и методе (22 стране), Резултати (29 страна), Дискусија (29 страна), Закључци (3 стране), Литература (28 страна), са 247 библиографских јединица. На крају дисертације приложени су: Листа скраћеница (4 стране), Биографија аутора (1 страна), Изјава о ауторству (1 страна), Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада (1 страна), Изјава о коришћењу (2 стране).

Анализа докторске дисертације:

У поглављу **Увод**, изложене су основне одлике мезенхимских матичних ћелија белог масног ткива (АДСЦ) као кандидата за третман коштаних дефеката због својства да се диференцирају у остеопрогениторне ћелије. Кроз преглед научне литературе у датој области и истраживања истакнута је важност припреме и употребе АДСЦ у ткивном инжењерству кости и у клиничке сврхе у односу на њихов остеогени потенцијал. У поглављу **Предмет и циљ** дате су јасно смернице и задаци истраживања, да се упореди и анализира остеогени потенцијал свеже изолованих АДСЦ садржаних у стромалној васкуларној фракцији (СВФ) и потенцијал *ин витро* остеоиндукованих АДСЦ на моделу ектопичне имплантације код Балб/ц мишева. Поглавље **Материјал и методе** описује употребљени материјал, поступке и начине извођења процедура у експерименталном делу дисертације. АДСЦ добијене из белог масног ткива Балб/ц мишева су окарактерисане анализом имуноекспресије ЦД29 и ЦД14 маркера. Процена степена остеогене

диференцијације АДЦЦ вршена је анализом релативне експресије гена маркера остеогенезе, остерикса (*Sp7*), остеокалцина (*Bglap*), алфа 1 ланца колагена типа I (*Colla1*) и алкалне фосфатазе (*Alpl*), бојењем минералних депозита и анализом имуноекспресије остеопонтинина. Формиране су четири групе имплантата који су имплантирани поткожно Балб/ц мишевима. СПН имплантате су чиниле свеже изоловане АДЦЦ садржане у СВФ, минерални коштани матрикс (БММ) и плазма обогаћена тромбоцитима (ПРП). ОПН имплантате су чиниле петнаестодневно остеоиндуковане АДЦЦ, БММ и ПРП. ПН контролне имплантате су чинили ПРП и БММ, а Н контролне имплантате чинио је БММ. Остеогени процес у имплантатима процењиван је анализом релативне експресије *Sp7*, *Bglap*, *Colla1* и *Alpl* након прве, друге, четврте и осме недеље од имплантације, а такође је урађена хистоморфолошка, хистоморфометријска и имунохистохемијска анализа имплантата екстрахованих након друге и осме недеље од имплантације. У поглављу **Резултати** прегледно и детаљно приказани су добијени резултати истраживања. Поглавље је организовано у потпоглавља, у односу на *in vitro* и *in vivo* део истраживања, у међусобно повезане целине које одговарају задатим циљевима. Нађена је позитивна ЦД29 и негативна ЦД14 експресија код већине ћелија у свеже изолованој стромалној васкуларној фракцији и у успостављеној ћелијској култури што је карактеристика АДЦЦ. Након петнаестодневне остеогене индукције АДЦЦ, забележена је најјача експресија свих анализираних маркера остеогене диференцијације у односу на остале временске термине. Постепени пораст експресије гена маркера остеогенезе која је достигла врхунац након осме недеље, појачано присуство ћелија налик остеобластима и остеокластима, знакови ресорпције БММ, висок проценат инфилтрираног ткива и присуство ткива налик остеоиду, указују да је остеогени процес у ОПН групи достигао врхунац након осме недеље од имплантације. У СПН групи, нађени су јако изражени знаци иницијације остеогеног процеса већ после друге недеље, али од четврте до осме недеље, експресија гена маркера остеогенезе опада, а и хистолошка слика иде у прилог слабљењу остеогеног процеса. У поглављу **Дискусија** су критички разматрани добијени резултати у складу са адекватном литературом и истраживањима у области. У поглављу **Литература** дата је листа библиографских јединица. Приказане референце се односе на области истраживања које су од значаја за докторску дисертацију и које су адекватно цитиране, тако да доприносе објашњењу добијених резултата. У поглављу **Закључци** су изнети најзначајнији научни доприноси ове докторске дисертације. Свеже изоловане АДЦЦ имају способност да брже иницирају остеогени процес него остеоиндуковане АДЦЦ у ектопичним условима са присуством ПРП-а, као извора регулаторних фактора. Такође, резултати указују да неиндуковане АДЦЦ нису способне да одрже остеогени процес дуже време на високом нивоу у наведеним експерименталним условима. Закључује се да су свеже изоловане АДЦЦ добар кандидат за третман коштаних оштећења због свог остеогеног потенцијала, али и због уштеде времена у оним ситуацијама када је у клиничкој пракси неопходан брз интраоперативни приступ, односно решавање проблема у једном кораку. Резултати сугеришу даља додатна истраживања како би се нашле дозе остеогених фактора које је неопходно комбиновати са свежим АДЦЦ са циљем да се подржи на дуже време остеогени процес, као и провера овде добијених резултата из ектопичног модела на ортотопичним моделима, који су ближи клиничким условима.

Библиографија:

Владимир Цветковић је као аутор и коаутор објавио укупно шеснаест научних радова, а од тога четири рада у врхунским међународним часописима (М21), седам радова у часописима међународног значаја (М23) и пет радова у националним часописима (М53),

затим 20 саопштења са међународних научних скупова штампаних у изводу (M34) и три саопштења са националних научних скупова штампаних у изводу (M64).

Библиографске јединице које су проистекле из доктората:

Рад у врхунском међународном часопису M21:

1. V.J. Cvetković, J.G. Najdanović, M.Đ. Vukelić-Nikolić, S. Stojanović, S.J. Najman. Osteogenic potential of *in vitro* osteo-induced adipose-derived mesenchymal stem cells combined with platelet-rich plasma in an ectopic model, *International Orthopaedics*, 39(11), 2173-2180; 2015

Рад у часопису међународног значаја M23:

1. J.G. Najdanović, V.J. Cvetković, S. Stojanović, M.Đ. Vukelić-Nikolić, M.N. Stanisavljević J.M. Živković, S.J. Najman. The influence of adipose-derived stem cells induced into endothelial cells on ectopic vasculogenesis and osteogenesis, *Cellular and Molecular Bioengineering*, 8(4), 577-590; 2015

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу M34:

1. V. Cvetković, J. Najdanović, M. Vukelić-Nikolić, M. Stanisavljević, J. Rajković, J. Živković, S. Stojanović, S. Najman. Gene expression pattern of some bone-related markers in *in vitro* osteoinduced adipose-derived stem cells isolated from Balb/c Mice. V Congress of the Serbian Genetic Society. Serbia, 28.9.-2.10., Book of Abstracts p.105, Kladovo, 2014.

2. V. Cvetković, S. Najman, J. Najdanović, M. Stanisavljević, M. Vukelić-Nikolić, S. Stojanović, J. Rajković. Histochemical analysis of *in vivo* osteogenic processes in constructs consisted of adipose-derived stem cells, platelet-rich plasma and bone mineral matrix. The 33rd Balcan Medical Week. Romania, 8.10.-11.10., Archives of the Balcan Medical Union. Supplement I, A93, Bucharest, 2014.

3. S. Najman, S. Stojanović, J. Najdanović, J. Živković, D. Petrović, I. Vučković, V. Cvetković, Lj. Sekulović, D. Tričković-Vukić, M. Vukelić, P Vasiljević, M Trajanović, Adipose derived mesenchymal stem cells as a model for study osteoinductive activity of bone substituting biomaterials. Fourteenth Annual Conference YUCOMAT. Montenegro, 3.9.-7.9., Programme and The Book of Abstracts, p.126, Herceg Novi, 2012.

Библиографске јединице проистекле из уже научне области доктората:

Рад у часопису међународног значаја M23:

1. V. Cvetković, S. Najman, J. Rajković, A. Zabar, P. Vasiljević, Lj. Djordjević, M. Trajanović, A comparison of the microarchitecture of lower limb long bones between some animal models and humans: a review, *Veterinarni Medicina*, 58(7), 339-351; 2013

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу M34:

1. S. Najman, Lj. Đorđević, P. Vasiljević, M. Ćirić, M. Vukelić-Nikolić, J. Živković, S. Stojanović, J. Najdanović, J. Rajković, V. Cvetković, M. Stanisavljević, I. Vučković, Z. Golubović, Z. Ajduković, D. Petrović, Ž. Mitić, S. Petrović, I. Golubović, D. Mihailović, M. Trajanović. Bone tissue engineering on experimental models. The Fourth Serbian Ceramic Society Conference »Advanced Ceramics and Application IV«. Serbia, 21.9-23.9., Program and The Book of Abstracts, pp.86-87, Belgrade, 2015.

2. J. Rajković, S. Najman, S. Stojanović, Lj. Đorđević, V. Cvetković, Z. Ajduković. Early fracture healing in ovariectomized rats femur helped with alfacalcidol and platelet-rich plasma on Bio-Oss carrier. Thirteenth Young Researchers' Conference - Materials Science and Engineering. Serbia, 10.12.-12.12., Programme and The Book of Abstracts, p.8, Belgrade, 2014.

3. M. Vukelić, S. Najman, J. Živković, M. Stanisavljević, V. Cvetković, J. Najdanović, J. Živanov-Čurlis, The role of periferal blood cells in the induction of ectopic osteogenesis. Thirteenth annual conference YUCOMAT. Montenegro, 5.9.- 9.9., Programme and The Book of Abstracts, p.174, Herceg Novi, 2011.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидата **Владимира Ј. Цветковића**, под насловом: **“Анализа ектопичног остеогеног потенцијала мезенхимских матичних ћелија белог масног ткива код миша на основу релативне експресије гена маркера остеогенезе”**, по садржају, јасно дефинисаним циљевима, одговарајућем експерименталном дизајну и методологији, из којих су проистекли добро образложени резултати који су и компетентно дискутовани, на основу чега су изнети релевантни закључци, испуњава све критеријуме добро написаног квалитетног научног рада. Комисија сматра да ова докторска дисертација представља оригинални научни допринос бољем разумевању остеогеног потенцијала различито припремљених АДСЦ што је важно имати у виду при избору начина и услова за њихову потенцијалну примену у третману коштаних дефеката.

У изради дисертације кандидат је показао висок степен познавања научне основе проблематике, добро поставио хипотезе и циљеве, применио адекватне методе истраживања кроз опсежан експериментални рад и обраду добијених резултата, које је критички дискутовао користећи релевантну литературу.

Имајући у виду све наведено, Комисија позитивно оцењује дисертацију и предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај Извештај и одобри дипломираном биологу Владимиру Ј. Цветковићу одбрану докторске дисертације под насловом: **“Анализа ектопичног остеогеног потенцијала мезенхимских матичних ћелија белог масног ткива код миша на основу релативне експресије гена маркера остеогенезе”**.

У Београду, 26.07.2016. године.

КОМИСИЈА:

др Марина Стаменковић-Радак, редовни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Стево Најман, редовни професор
Универзитет у Нишу - Медицински факултет

др Гордана Никчевић, научни саветник
Универзитет у Београду - Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство